HETEROCHROMATIN UND POLYMORPHISMUS VON FLUORESZENZBANDEN IM MENSCHLICHEN CHROMOSOMENSATZ

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu
BONN

vorgelegt von
ROLF SCHWIEDER
aus
GELSENKIRCHEN

BONN 1976

HETEROCHROMATIN UND POLYMORPHISMUS VON FLUORESZENZBANDEN IM MENSCHLICHEN CHROMOSOMENSATZ

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich - Wilhelms - Universität
zu
BONN

vorgelegt von
ROLF SCHWIEDER
aus
GELSENKIRCHEN

BONN 1976

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

I. Gutachter: Priv. Doz. Dr. med. E. Schwinger
II. Gutachter: Prof. Dr. med. F. Pera

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin
der Universität Bonn
Direktor: Professor Dr. med. H. Elbel

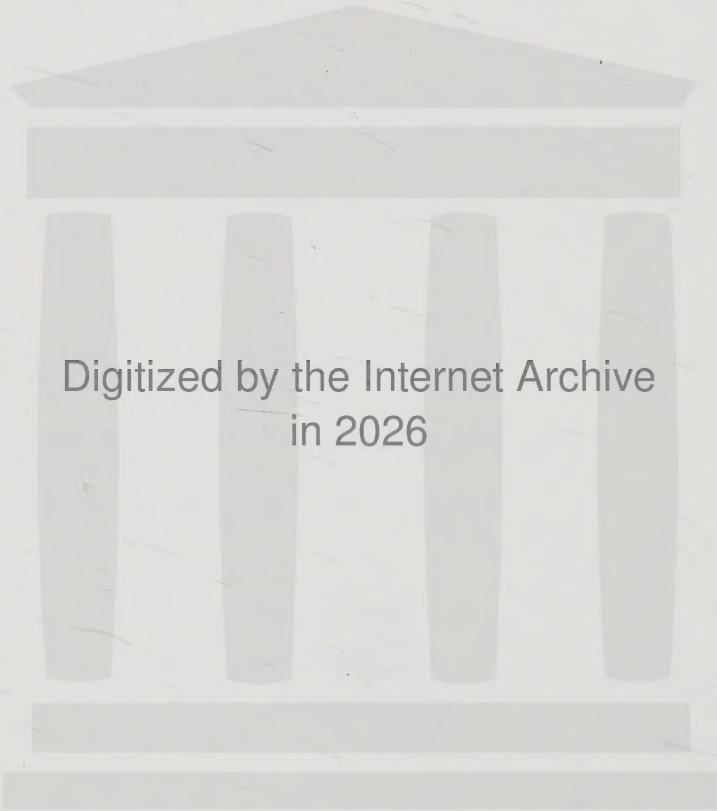
UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Firma Heisterkamp
Gelsenkirchen-Buer

Meinen Eltern

in Dankbarkeit

gewidmet


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523713_0039

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	7
2. Heterochromatin und Entstehung der Q - Banden	8 - 27
2.1. Historische Entwicklung und Definition	8 - 9
2.2. Darstellung und Lokalisation von Heterochromatin	9 - 11
2.3. Einteilung von Heterochromatin	12 - 13
2.4. DNS des Heterochromatins	14 - 18
2.4.1. DNS des fakultativen Heterochromatins	14
2.4.2. Satelliten - DNS	14 - 16
2.4.3. "Moderately repetitious" DNS	16
2.4.4. AT-reiche DNS	16 - 17
2.4.5. DNS des konstitutiven Heterochromatins	17 - 18
2.5. Chromatinstruktur und Proteine	18 - 19
2.6. Heterochromatin und Proteine	19
2.7. Funktion des Heterochromatins	2o - 23
2.7.1. Funktion der Proteine	2o - 21
2.7.2. Fakultatives Heterochromatin	21
2.7.3. Konstitutives Heterochromatin	21 - 23
2.7.4. Strukturelle Bedeutung des Heterochromatins	23
2.8. Ursachen für die Entstehung der Q - Banden	23 - 27
2.8.1. Strukturelle Ursachen für die Bandenbildung	24
2.8.2. Chemische Ursachen für die Bandenbildung	24 - 26
2.8.3. Proteine und Q - Banden	26 - 27
3. Material und Methoden	28 - 31
3.1. Untersuchungsmaterial	28
3.2. Präparation	29
3.3. Färbung	3o
3.4. Auswertung	3o - 31
4. Ergebnisse	32 - 41

Seite

5. Diskussion 42 - 52

5.1. Häufigkeit des Polymorphismus 42 - 43

5.2. Q - Banden, polymorphe Abschnitte und Heterochromatin 43

5.2.1. Darstellung im Interphasekern 43 - 45

5.2.2. Replikation der DNS 45

5.2.3. Genetische Aktivität 45 - 47

5.3. Ursachen des Polymorphismus 47 - 5o

5.4. Anwendung des Polymorphismus 51 - 52

6. Zusammenfassung 53

Literaturverzeichnis 54 - 63

1. EINLEITUNG

Die von CASPERSSON und Mitarbeitern 197o entwickelte Fluoreszenzfärbung der Chromosomen mit den Acridinderivaten Quinacrin-Dihydrochlorid und Quinacrin-Mustard hat sich als eine sehr gute Methode für die routinemäßige Chromosomenuntersuchung in der menschlichen Zytogenetik erwiesen. Nach Anfärbung mit diesen Farbstoffen werden auf den Chromosomen im Fluoreszenzmikroskop sichtbare charakteristische Querbanden stärkerer und schwächerer Fluoreszenz erzeugt, die eine eindeutige Bestimmung und paarige Anordnung aller Chromosomen des menschlichen Karyotyps ermöglichen. Mit Hilfe fluorometrischer Messungen konnte in Reihenuntersuchungen nachgewiesen werden, daß die Bandenmuster sowohl bei einem Individuum als auch bei verschiedenen Personen reproduzierbar und unabhängig von der Art des untersuchten Gewebes sind. (CASPERSSON et al., 197o c; ZECH, 1973)

Die Anordnung der Chromosomen im Karyogramm, wie es bei der "IV International Conference on Standardization in Human Cytogenetics" 1971 in Paris festgelegt wurde, basiert zum größten Teil auf der Grundlage der Chromosomenfärbung mit Quinacrinderivaten. (HAMERTON, 1973)
Während der routinemäßigen Anwendung der Quinacrinfärbung wurde von einigen Untersuchern beobachtet, daß bestimmte Stellen einiger Chromosomen polymorphes Anfärbeverhalten aufweisen. Außer den charakteristischen Banden zeigen sich bei einigen Individuen an bestimmten Chromosomenabschnitten stark fluoreszierende Banden, die bei anderen nicht zu beobachten sind. (CASPERSSON et al., 1971; SCHNEDL, 1971 c; ALFI et al., 1971; SCHNEDL, 1974)

Diese polymorphen Chromosomenabschnitte und deren Vererbung innerhalb von Familien sollen Gegenstand der vorliegenden Untersuchung sein.
Zunächst soll jedoch versucht werden, eine allgemeine Darstellung des derzeitigen Wissensstandes über Heterochromatin und die Ursachen der Entstehung der Bandenmuster zu geben.

2. HETEROCHROMATIN UND ENTSTEHUNG DER Q - BANDEN

2.1. Historische Entwicklung und Definition

Obwohl der Begriff Heterochromatin seit langer Zeit seinen festen Platz im Vokabular der Zytogenetik gefunden hat, bestehen doch immer noch Schwierigkeiten darin, eine völlig eindeutige Definition des Begriffes zu liefern.
Die Beobachtung, daß sich einige Geschlechtschromosomen während der Meiose und Mitose einer Heteropyknose unterziehen, führte zur Unterscheidung von Euchromosomen (Autosomen) und Heterosomen. Analog dazu entstanden die Begriffe Euchromatin und Heterochromatin. (COMINGS, 1972)

Diese Definition wurde erweitert durch die Untersuchungen von HEITZ u.a. . HEITZ konnte 1933 nachweisen, daß Chromatin bestimmter Chromosomen auch während der Interphase kondensiert bleibt, und er bezeichnete dieses Chromatin als Heterochromatin. Dadurch wird der Begriff Heterochromatin vom Begriff der Heteropyknose abgegrenzt: Heteropyknotisch ist das Chromatin, das sich in einem kondensierten Zustand befindet und sich so vom unkondensierten Chromatin unterscheidet, während als heterochromatisch das Chromatin bezeichnet wird, das während des gesamten Zellzyklus seinen heteropyknotischen Zustand beibehält.

Die frühen Untersuchungen von BRIDGES (1916) hatten gezeigt, daß das Y - Chromosom von Drosophila als relativ genetisch inert erscheint, und MULLER und PAINTER (1932) hatten beobachtet, daß das X - Chromosom einen Abschnitt enthält, der dem Y - Chromosom vergleichbar ist. Daraus ließ sich der Schluß ziehen, daß Heterochromatin genetisch inert sei.

Mit der Entwicklung der Technik der Autoradiographie wurde der Inhalt des Begriffes Heterochromatin wesentlich erweitert. Mit Hilfe dieser Technik konnte gezeigt werden, daß die DNS der heterochromatischen Geschlechtschromosomen einiger Spezies sich

außerhalb der Phase der übrigen DNS replizierte. (LIMA-DE-FARIA, 1959)
Somit wurde folgende, wenn auch nicht vollständige, brauchbare Definition von Heterochromatin aufgestellt: Heterochromatin ist ein bestimmter Abschnitt gewisser Chromosomen, der auch während der Interphase heteropyknotisch bleibt, genetisch inert ist und seine Replikation außerhalb der Phase der euchromatischen Chromosomenabschnitte vollzieht. (COMINGS, 1972)

2.2. Darstellung und Lokalisation von Heterochromatin

Die Problematik der vorstehenden Definition wird deutlich, wenn man sich vor Augen hält, daß zur Darstellung dieser Eigenschaften von Heterochromatin verschiedene Methoden notwendig sind. Bereits HEITZ unterschied nach dem Färbeverhalten und der Lokalisation zwei Arten von Heterochromatin: Das dichte Heterochromatin an den Chromozentren nannte er Alpha-Heterochromatin, das weniger stark gefärbte auf den Chromosomenarmen nannte er Beta-Heterochromatin. (HEITZ, 1934)
Mit der Entwicklung neuerer Darstellungsmethoden hat sich diese Einteilung als unzureichend erwiesen. Von den heute angewandten Darstellungsmethoden für Heterochromatin, vor allem an menschlichen Chromosomen, sind folgende die gebräuchlichsten:

1) Die Autoradiographie und die ihr verwandte in situ Hybridisierung,
2) die C - Banden - Technik,
3) die G - Banden - Technik und
4) die Q - Banden - Technik.

Die Methode der Autoradiographie beruht darauf, daß radioaktiv markierte Nukleoside in die replizierenden Chromosomen eingebaut werden. Die zeitliche Ausdehnung der Replikation eines Chromosoms ermöglicht es, zu einer bestimmten Zeit ein bestimmtes Replikationsmuster eines Chromosoms zu erfassen, und somit einzelne Chromosomenpaare und Chromosomenabschnitte in etwa zu

identifizieren. Gleichzeitig kann man, je nach der zugegebenen radioaktiven Base, auf die chemische Zusammensetzung einzelner Chromosomenabschnitte schließen, z. B. auf eine Anreicherung bestimmter Basen in bestimmten Abschnitten. (SCHMID, 197o; GANNER und EVANS, 1971)
Eine Weiterentwicklung dieser Methode ist die in situ Hybridisierung. Hier werden nicht einzelne Basen, sondern radioaktiv markierte Nukleinsäuren zugegeben. So läßt sich die Stelle in einer Zelle oder auf einem Chromosom bestimmen, die der zugegebenen Nukleinsäure homolog ist. (PARDUE und GALL, 197o; ARRIGHI et al., 1971)
1971 veröffentlichten ARRIGHI und HSU eine Färbetechnik, die als C - Banden - Technik oder "alkaline treatment" bezeichnet wird. Dabei wird als wichtigster Vorgang die DNS der Chromosomen zunächst in NaOH denaturiert, danach ranaturiert und anschließend mit Giemsa angefärbt. Auf diese Weise lassen sich bei menschlichen Chromosomen vorzugsweise die zentromernahen Abschnitte anfärben. Besonders stark angefärbt werden außerdem die sekundären Konstriktionen an den Chromosomen A 1, C 9, E 16 und der lange Arm des Y - Chromosoms.
Aus dieser Technik wurde die G - Banden - Technik entwickelt, die es ermöglicht, die Chromosomenarme in charakteristischer Weise anzufärben. (SUMNER et al., 1971)
Von dieser Methode gibt es zahlreiche Variationen, die sich vor allem in der Art und Weise der Denaturierung und der Fixation der DNS unterscheiden, deren Ergebnisse aber doch nahezu übereinstimmen. (CHAUDHURI et al., 1971; SCHNEDL, 1971 c, 1971 d)

Die von CASPERSSON und Mitarbeitern entwickelte Fluoreszenzfärbung mit Quinacrinfarbstoffen wird als Q - Banden - Technik bezeichnet. Diese verhältnismäßig einfache Methode erlaubt eine individuelle Bestimmung der einzelnen Chromosomen und hat wegen ihrer gut reproduzierbaren Ergebnisse große Bedeutung für die Chromosomenidentifizierung in der Zytogenetik gewonnen. Die Ursachen, die der Darstellung der Q - Banden möglicherweise zugrunde liegen, sollen in Kapitel 2.8 noch näher dargelegt wer-

den. (CASPERSSON et al., 197o b, 197o c, 1971)

Vergleicht man die Ergebnisse der einzelnen Methoden miteinander, so ergeben sich im menschlichen Karyotyp folgende Bilder der Heterochromatinlokalisation:

Die Autoradiographie zeigt spätreplizierende Chromosomenabschnitte: An den zentromernahen Regionen der Chromosomen, an bestimmten Abschnitten der Chromosomenarme, am langen Arm des Y - Chromosoms und auf dem genetisch inaktiven X - Chromosom weiblicher Individuen. (SCHMID, 197o; GANNER und EVANS, 1971; SCHNEDL, 1971 c)

Mit Hilfe der C - Banden - Technik lassen sich als heterochromatische Bereiche darstellen: Die zentromernahen Regionen, die sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16, und Abschnitte auf dem langen Arm des Y - Chromosoms. (SUMNER et al., 1971)

Die G - Banden - Technik zeigt stark angefärbte Bereiche in den zentromernahen Regionen bestimmter Chromosomen, besonders an Nr. 7 und 22, und an bestimmten Abschnitten der Autosomen, auch an den sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1 und 16. Der zentromernahe Bereich von Chromosom 9 zeigt keine Besonderheit. Die starke Anfärbung des langen Armes des Y - Chromosoms gelingt nicht mit allen Modifikationen dieser Technik. (EVANS et al., 1971; LOMHOLT und MOHR, 1971; SCHNEDL, 1971 d; SPERLING und WIESNER, 1972)

Die Q - Banden - Technik führt zu folgenden Ergebnissen: An den zentromernahen Regionen zeigt sich keine auffällige Fluoreszenz, mit Ausnahme der Chromosomen, die in der folgenden Untersuchung noch beschrieben werden sollen. Auf den Armen der Autosomen zeigen sich fluoreszierende Banden, die mit den spätreplizierenden Abschnitten der Autoradiographie und den stark angefärbten Abschnitten der G - Banden - Technik übereinstimmen, mit Ausnahme der sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16, die sich mit Quinacrinfarbstoffen nicht spezifisch anfärben lassen und ohne Fluoreszenz sind. Der lange Arm des Y - Chromosoms fluoresziert bei allen männlichen Individuen sehr stark. (CASPERSSON et al., 1971; AULA und SAKSELA, 1972)

2.3 Einteilung von Heterochromatin

Die heute gebräuchliche Differenzierung von Heterochromatin ist die Einteilung in konstitutives und fakultatives Heterochromatin. Letzteres ist das Heterochromatin, das nur auf einem Chromosom eines homologen Paares erscheint. Ein Beispiel hierfür ist das spätreplizierende, genetisch inaktive X - Chromosom weiblicher Individuen.
Als konstitutives oder strukturelles Heterochromatin bezeichnet man das Chromatin, das als Strukturcharakteristikum der Autosomen in Erscheinung tritt. Es repliziert bei autoradiographischen Untersuchungen noch später, aber schneller als das fakultative Heterochromatin. Beispiele hierfür sind das Chromatin der Zentromerregionen der Chromosomen und der sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16. (SCHMID, 197o)
Üblicherweise wird in der Literatur auch das Chromatin, das in den Bereichen lokalisiert ist, die als Q - und G - Banden erscheinen, als konstitutives Heterochromatin bezeichnet. Inwieweit das Chromatin, das in den Q - Banden erscheint, der eingangs gegebenen Definition von Heterochromatin entspricht, soll in der Diskussion noch eingehender dargestellt werden. (s. Kapitel 5.2)

Einen Überblick über den Zusammenhang dieser Einteilung mit den Darstellungsmethoden von Heterochromatin soll die Tabelle 1 zeigen.

Tabelle 1:

Einteilung und Darstellungsmethoden von Heterochromatin (ergänzt nach COMINGS, 1972)

	Darstellungsmethoden:			
	Q - Banden	G - Banden	C - Banden	späte DNS-Replikation
Konstitutives Heterochromatin:				
Zentromerregionen	(∓)	-	+	+
Banden der Autosomen	+	+	(∓)	+
Sekundäre Konstriktionen 1, 9 u. 16	-	+	+	+
Langer Arm des Y - Chromosoms	+	(∓)	+	+
Fakultatives Heterochromatin:				
genetisch inaktives X - Chromosom	-	-	-	+

2.4 DNS des Heterochromatins

Angesichts der morphologischen Vielfalt, mit der Heterochromatin in Erscheinung tritt, erheben sich folgende Fragen:

1) Unterscheidet sich die DNS des Heterochromatins in ihrer Basenzusammensetzung von der DNS des Euchromatins?

2) Läßt sich dem Begriff Heterochromatin ein bestimmtes chemisches Substrat oder eine chemische Struktur zuordnen?

3) Unterscheiden sich die verschiedenen Heterochromatinarten auch in ihrer DNS-Zusammensetzung?

2.4.1 DNS des fakultativen Heterochromatins

Gemäß einer Forderung der Lyon-Hypothese ist die genetische Inaktivierung eines der beiden X - Chromosomen weiblicher Individuen zufällig. Demnach muß der Chromatingehalt und die Art der DNS bei beiden Homologen gleich sein. Unter der Voraussetzung der Gültigkeit der Lyon-Hypothese unterscheidet sich das fakultative Heterochromatin in seiner DNS-Zusammensetzung also nicht vom Euchromatin. (COMINGS, 1972)

2.4.2 Satelliten - DNS

Innerhalb der DNS des Chromatins sind die einzelnen Basen nicht gleichmäßig verteilt. Wenn man die DNS der Chromosomen in CsCl zentrifugiert, so zeigt sich, daß sie bei einigen Spezies aus Molekülen unterschiedlicher Dichte besteht. Die Ursache für die unterschiedliche Dichte ist eine unterschiedliche Basenzusammensetzung der einzelnen Moleküle. Bei einigen Spezies lassen sich so neben einer DNS-Hauptbande eine oder mehrere Satellitenbanden verschiedener Größe und Dichte unterscheiden, deren DNS als Satelliten - DNS (SAT - DNS) bezeichnet wird. (CORNEO et al, 1970)
Damit ein Teil eines Genoms als Satellit erscheinen kann, müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein:

1) Es muß eine Hauptbasenkomposition der SAT - DNS bestehen, die von der Zusammensetzung der Hauptbanden - DNS verschieden ist. Guanin- und cytosinreiche (GC-reiche) Satelliten - DNS zeigt eine höhere Dichte, adenin- und thymidinreiche (AT-reiche) DNS zeigt eine niedere Dichte als die Hauptbanden - DNS des Genoms.

2) Die einzelnen Moleküle müssen gebündelt sein und dürfen nicht verstreut zwischen großen Blöcken normaler DNS verborgen sein. Je einheitlicher die Basensequenz ist, desto steiler ist der "peak" des Satelliten. (COMINGS, 1972)
Ein besonders untersuchter Satellit ist ein Satellit der Mäuse-DNS, der ca. 1o % der gesamten DNS enthält.
Wenn man die DNS dieses Satelliten isoliert und in einzelne Stränge denaturiert, so zeigt sich, daß sie besonders schnell renaturiert. Die Ursache liegt darin, daß diese DNS aus einer großen Anzahl ähnlicher oder "repetitiver" Basensequenzen zusammengesetzt ist. So finden sich schnell komplementäre Stränge zusammen, die miteinander hybridisieren. Diese Satelliten - DNS wird auch als "highly repetitious" DNS bezeichnet. Sequenzanalysen deuten darauf hin, daß diese DNS aus Molekülen besteht, die aus wenigen Basen zusammengesetzt sind, die zwischen 1o.ooo und 1oo.ooo mal wiederholt sein können. (SUMNER et al., 1971; GOLOMB und BAHR, 1971)
Der Nachweis von DNS - Familien mit repetitiven Nukleotidsequenzen ist ein charakteristisches Unterscheidungsmerkmal zwischen Bakterien und höheren Organismen.
Durch Untersuchungen mit in situ Hybridisierung konnte nachgewiesen werden, daß die Satelliten - DNS der Mäuse vorzugsweise in den heterochromatischen Zentromerregionen der Chromosomen lokalisiert ist. Eine Ausnahme bildet das Y - Chromosom; es enthält kein zentromernahes Heterochromatin, und bei ihm läßt sich keine Satelliten - DNS nachweisen. (PARDUE und GALL, 197o)

Aus der DNS des menschlichen Genoms sind bisher mindestens drei verschiedene Satelliten - DNS - Fraktionen nachgewiesen worden. Ihre Verteilung ist nicht so begrenzt wie bei der Maus. Die als

Satelliten - Fraktion I bezeichnete DNS hybridisiert ohne auffällige Spezifität an alle Chromosomen. Die Fraktion II zeigt eine bevorzugte Affinität zu den zentromernahen Regionen der Chromosomen, besonders der Chromosomen 1, 9 und 16. Fraktion III läßt sich vorwiegend in den Zentromerregionen der akrozentrischen Chromosomen der D - und G - Gruppe nachweisen, ist aber in besonders auffälliger Anhäufung in der Perizentromerregion von Chromosom 9 zu finden. Durch in situ Hybridisierung mit dieser Fraktion läßt sich Chromosom 9 im Interphasekern selektiv lokalisieren. In den großen heterochromatischen Blocks der Chromosomen 1 und 16 ist diese Fraktion nicht nachzuweisen. (GANNER und EVANS, 1971; SAUNDERS et al., 1972)

2.4.3 "Moderately repetitious" DNS

Von der "highly repetitious" DNS, die ca. 2,5 % des menschlichen Genoms ausmacht, lassen sich entsprechend dem Renaturierungsverhalten andere DNS - Fraktionen unterscheiden, die als "moderately repetitious" DNS bezeichnet werden. Der Anteil dieser Fraktionen am Genom beträgt ca. 15 %. Diese DNS besteht zwar auch aus repetitiven Nukleotidsequenzen, das Ausmaß der Wiederholungen ist jedoch erheblich geringer als bei der "highly repetitive" DNS und der übrigen DNS. (SUMNER et al., 1971) Eine besondere Anhäufung der "moderately repetitious" DNS in den heterochromatischen Bereichen der Chromosomen ist bisher noch nicht eindeutig nachgewiesen. (YUNIS et al., 1971)

2.4.4 AT - reiche DNS

Eine weitere besondere Art der DNS zeigt sich bei der Untersuchung einer gereinigten Heterochromatinfraktion der Maus. Der Anteil der Satelliten - DNS beträgt hier bis zu 49 % der Heterochromatin - DNS. Etwa 5o % der heterochromatischen DNS bestehen aus einer "main band" DNS, deren Dichte geringer ist, als die der Hauptbanden - DNS des gesamten Genoms; sie muß also AT-reicher sein als die Hauptbanden - DNS. Denaturierungs- und Renaturierungsuntersuchungen zeigen, daß der Gehalt an repetitiven

Sequenzen nicht größer sein kann, als der der Hauptbanden - DNS des Euchromatins. Eine solche AT-reiche DNS kann auch im menschlichen Genom nachgewiesen werden. Sie repliziert später als die DNS des Euchromatins und ist bevorzugt in den Chromosomenabschnitten zu finden, die als Q - oder G - Banden erscheinen. (COMINGS, 1972)

2.4.5 DNS des konstitutiven Heterochromatins

In den Abschnitten menschlicher Chromosomen, in denen konstitutives Heterochromatin nachzuweisen ist, findet sich eine deutliche Anhäufung repetitiver Nukleotidsequenzen, auch im heterochromatischen Bereich des Y - Chromosoms. Bestimmte Arten repetitiver DNS sind exklusiv in bestimmten heterochromatischen Abschnitten lokalisiert. Das Vorkommen repetitiver DNS ist jedoch nicht auf die heterochromatischen Chromosomenabschnitte beschränkt. (ARRIGHI et al., 1971)

Die eingangs dieses Kapitels gestellten Fragen lassen sich also folgendermaßen beantworten:

1) Die DNS des fakultativen Heterochromatins unterscheidet sich in ihrer Basenzusammensetzung nicht von der DNS des Euchromatins. Die DNS des konstitutiven Heterochromatins zeichnet sich gegenüber der DNS des Euchromatins durch einen hohen Gehalt an repetitiven Nukleotidsequenzen und einen hohen AT - Gehalt aus.

2) Ein bestimmtes chemisches Substrat oder eine homogene chemische Struktur läßt sich dem Heterochromatin nicht zuordnen. Es besteht zum Teil aus repetitiven Nukleotidsequenzen, die sich in ihrer Basenzusammensetzung sehr wohl unterscheiden und aus einer DNS, die nicht aus repetitiven Sequenzen zusammengesetzt ist, die aber eine auffällige Anreicherung von Adenin - und Thymidinbasen zeigt.

3) Im konstitutiven Heterochromatin der Zentromerregionen und der sekundären Konstriktionen findet sich eine besondere

Anhäufung bestimmter Fraktionen der repetitiven DNS, während die nicht repetitive AT-reiche DNS vorwiegend in den heterochromatischen Bereichen zu finden ist, die als Q - bzw. G - Banden erscheinen.

2.5 Chromatinstruktur und Proteine

Auf der Grundlage von Untersuchungen mit dem Elektronenmikroskop und der Anwendung von Röntgenstrahlen hat man folgende Modellvorstellung von der Chromatinstruktur entwickelt:
Kleinste Einheit ist eine 2o Å dicke DNS Helix, die von Hüllprotein bedeckt ist und so als 3o Å DNP - Faser erscheint. Durch weiteres Aufwickeln, durch die Ausbildung einer Superhelix oder "supercoil" kann sich die DNP - Faser zu einer 1oo Å Faser verdicken. Die Zusammenlagerung von zwei 1oo Å Fasern oder die Bildung weiterer Superhelices kann Ursache für die Entstehung noch dickerer Fasern sein. (HARBERS und SANDRITTER, 1973)
Untersuchungen des Chromatins aus Metaphasechromosomen haben ergeben, daß es zu 13 bis 17 % aus DNS, zu 8 bis 15 % aus RNS und zu 68 bis 79 % aus Protein besteht. Der RNS - Gehalt ist abhängig von der Kernphase: Während der Metaphase haftet ein großer Teil der ribosomalen RNS an der Oberfläche der Chromosomen, der aus dem während der Mitose untergegangenen Nukleolus stammt. Chromatin aus Interphasekernen enthält nur 3 bis 4 % RNS, dafür mehr DNS (25 %). (COMINGS, 1972)
Von den Proteinen ist die Hälfte bis drei Viertel durch Säure herauslösbar. Dieser Proteinanteil wird als Histon - Protein bezeichnet. Der Proteinanteil, der nach Entfernung der Histone und der DNS zurückbleibt, wird als Nichthiston - Protein bezeichnet.
Untersuchungen der Histon - Proteine haben ergeben, daß sich fünf verschiedene Typen oder Fraktionen unterscheiden lassen: F 1, F 2 A 1, F 2 A 2, F 2 B und F 3 Histone. Ferner konnte nachgewiesen werden, daß die verschiedenen Typen der Histone die Tendenz zeigen, sich paarweise anzuordnen, und zwar so, daß

sich F 2 A 1 mit F 3, und F 2 A 2 mit F 2 B zusammenlagern. (KORNBERG und THOMAS, 1974)
Verschiedene Befunde deuten nach Meinung von KORNBERG darauf hin, daß dies nicht nur in Lösungen der Fall ist, sondern daß eine derartige Anordnung auch für die Struktur des Chromatins bestimmend sei. Durch die Histone und die DNS werden Chromatineinheiten von etwa 2oo DNS - Basenpaaren gebildet, die jeweils von zwei Paaren der Histone bedeckt sind. Die Chromatinfaser besteht demnach aus zahlreichen derartigen Einheiten, die eine flexibel gegliederte Kette bilden.
Die Zuordnung der F 1 - Histone zu diesen Einheiten, ob sie in die Einheiten integriert oder an anderen Stellen des Chromatins lokalisiert sind, ist noch nicht geklärt. Das Verhältnis von F 1 - Histonen zu jeder der anderen Histon - Fraktionen beträgt ziemlich genau 1 : 2; dem entspricht das Verhältnis von einem F 1 - Histon zu jeder Chromatineinheit. (KORNBERG, 1974)

2.6 Heterochromatin und Proteine

Enzymatische Untersuchungen mit DNase haben gezeigt, daß nur ca. die Hälfte der DNS mit Protein bedeckt ist. Ein Unterschied in der Zusammensetzung der bedeckten und unbedeckten DNS - Abschnitte besteht nicht. Die Proteine sind also nicht bevorzugt an repetitive DNS gebunden und zeigen auch keine bevorzugte Affinität zu AT- oder GC-reichen Abschnitten.
Speziell für Histon - Proteine ist nachgewiesen, daß sie keine unterschiedliche Verteilung in heterochromatischen oder euchromatischen Chromosomenabschnitten zeigen. (COMINGS, 1972)
Im Vergleich zu den Histonen sind die heutigen Kenntnisse über die Nichthiston - Proteine gering. Ursache dafür sind vor allem die methodischen Schwierigkeiten, diese Proteine in intakter Form zu gewinnen. In vergleichenden Untersuchungen konnte jedoch nachgewiesen werden, daß der Gehalt an Nichthiston - Proteinen im genetisch aktiven Euchromatin deutlich größer ist, als im genetisch inaktiven Heterochromatin. (HARBERS und SANDRITTER, 1973)

2.7 Funktion des Heterochromatins

Definitionsgemäß ist Heterochromatin genetisch inaktiv. Diese Inaktivität ist jedoch nicht bewiesen, sondern nur hypothetisch begründet. Voraussetzungen für genetische Aktivitäten sind:

1) Eine genetisch relevante DNS und
2) ein Regulationsmechanismus der genetischen Aktivität.

Eine eingehende Darstellung der heutigen Vorstellungen über die genetischen Regulationsmechanismen würde über den Rahmen dieser Arbeit hinausführen. In diesem Zusammenhang sind folgende Mechanismen von Bedeutung:

1) Mechanismen zur Unterdrückung der genetischen Aktivität (Repressoren),
2) Mechanismen zur Genaktivierung (Aktivatoren) und
3) bestimmte Stellen in der DNS, die dem Gen (Operon) benachbart sind und auf die Wirkung der Repressoren oder Aktivatoren reagieren und den Befehl zur Aktion eines Operons geben (Operatorgene).

2.7.1 Funktion der Proteine

Die Verteilung der Histon - und Nichthiston - Proteine ist derart, daß Histone sowohl in euchromatischen als auch in heterochromatischen Chromosomenabschnitten gefunden werden. Nichthistone werden vorzugsweise im Euchromatin gefunden. Die Histone werden von einigen Autoren als unspezifische Repressoren der genetischen Aktivität angesehen. Diese Annahme ist jedoch umstritten. (HARBERS und SANDRITTER, 1973)
Die Nichthiston - Proteine lassen sich ihrer Funktion nach unterscheiden in:

1) Proteine mit enzymatischen und strukturellen Funktionen; sie dienen dem Ablauf und Unterhalt der "genetischen Maschine".

2) Regulatorproteine. Als Aktivatoren wirken sie im Sinne einer positiven Genkontrolle. Sie können eine spezifische Basensequenz erkennen und den repressiven Effekt der Histone aufheben. Andererseits können Nichthistone auch als Repressoren eine negative genetische Kontrolle ausüben, entsprechend den Lac - und Lambda - Repressoren bei E. COLI.

Die Verteilung der Aktivatoren und Repressoren genetischer Aktivität ist derart, daß Aktivatoren vorzugsweise im Euchromatin vorhanden sind, während Repressoren im Euchromatin und im Heterochromatin gefunden werden. (COMINGS, 1972)

2.7.2 Fakultatives Heterochromatin

Die Ursache für die genetische Inaktivität des fakultativen Heterochromatins ist bis heute nicht geklärt. Da sich seine DNS sehr wahrscheinlich nicht von der des Euchromatins unterscheidet, könnte der Grund für die Inaktivität in einer bestimmten räumlich fixierten Ordnung des Chromatins liegen. Voraussetzung dafür wäre, daß ein einmal eingenommenes Muster durch die Chromatinassoziation erhalten bleibt, da ja gemäß der Lyon - Hypothese ein einmal inaktiviertes X - Chromosom bei einem Individuum stets inaktiviert bleibt. (COMINGS, 1972)
Außerdem bietet - teleologisch gedacht - eine Inaktivierung durch bestimmte Chromatinanordnung leicht die Möglichkeit, die Inaktivierung durch Strukturveränderung aufzuheben.

2.7.3 Konstitutives Heterochromatin

Hinsichtlich der Funktion des konstitutiven Heterochromatins lassen sich einige Besonderheiten aufzeigen. Wie oben beschrieben wurde, besteht Heterochromatin zum Teil aus einer DNS, die AT-reicher ist als die des Euchromatins. Bei dieser DNS handelt es sich möglicherweise um eine degenerierte, inaktive euchromatische DNS. Die Ursache für die Inaktivierung ist unklar, aber

es kann angenommen werden, daß die Folge einer vorübergehenden Inaktivierung eine Basenmutation ist, die die Inaktivierung permanent macht. In vitro ist ein derartiger Vorgang nachgewiesen, der eine Möglichkeit der Mutation zu einer AT-reichen DNS verständlich macht. (COMINGS, 1973)
Die repetitive DNS dürfte wegen ihrer einfachen Basenfolge bei der Proteinsynthese keine Bedeutung haben. In einige Modellvorstellungen der genetischen Regulation paßt sie jedoch als Operatorgen hinein. Allerdings können diese Modelle nicht das Ausmaß erklären, in dem die repetitiven DNS - Sequenzen zum Teil im konstitutiven Heterochromatin auftreten. (COMINGS, 1972)
Zwei Besonderheiten der Funktion von Heterochromatin sind bei DROSOPHILA MELANOGASTER beobachtet worden. Unter der Bezeichnung "position effect" wird die Beeinflussung der genetischen Aktivität durch die Lage des Gens zum Heterochromatin beschrieben. Die Wirkung besteht darin, daß bestimmte Gene einen unterschiedlichen Phänotyp produzieren, je nachdem, ob sie sich in der Nachbarschaft von Heterochromatin befinden oder nicht. Bei bestimmten Genen läßt sich nachweisen, daß sie auch dann von Heterochromatin beeinflußt werden, wenn sie dem Heterochromatin nicht unmittelbar benachbart sind. Wenn Heterochromatin also auch keine unmittelbare genetische Aktivität zeigt, so beeinflußt es doch die genetische Aktivität, indem es entweder als nicht völlig unspezifischer Repressor wirkt, oder einige Gene oder ihre Regulatoren nur zum Teil durch einen Repressor von Heterochromatin beeinflußt werden.
Eine weitere Besonderheit zeigt die Beobachtung, daß die genetische Aktivität durch den gesamten Heterochromatingehalt beeinflußt wird. So kann die Entfernung eines Y - Chromosoms eine Zunahme der Inaktivierung der Gene, eine Zufügung von Y - oder X - Chromosomen eine Abnahme der Inaktivierung der Gene bewirken. Unklar ist allerdings noch, ob die Wirkung des Y - Chromosoms durch das Heterochromatin selbst verursacht wird, oder ob die Veränderung das Ergebnis der Wirkung zweier Supressor - Gene auf dem Y - Chromosom ist. (COMINGS, 1972)
Beobachtungen an Pflanzenchromosomen deuten darauf hin, daß

eine gewisse Abhängigkeit der Dauer des Zellzyklus vom Gesamtgehalt an Heterochromatin vorliegt. (NAGL, 1974)

2.7.4 Strukturelle Bedeutung des Heterochromatins

Eine weitere Bedeutung des Heterochromatins könnte in einer strukturellen Ordnungsfunktion für die Anordnung des Chromatins im Zellkern liegen.
In vitro Experimente mit repetitiver DNS, die im zentromernahen Heterochromatin gefunden wird, lassen ihre Bedeutung für die Ausbildung der Fasern des Spindelapparates während der Mitose vermuten. (PARDUE und GALL, 197o)
Allerdings läßt sich im zentromernahen Bereich des Y - Chromosoms bei der Maus keine repetitive DNS nachweisen, so daß diese Funktion der repetitiven DNS in vivo fraglich ist. (SAUNDERS et al., 1972)
Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, daß die Chromosomenarme untereinander durch Querfasern verbunden sind. Ob diese Fasern eine Bedeutung für die Chromosomenanordnung haben, ist noch nicht erwiesen. Es zeigt sich aber, daß diese Querverbindungen in den zentromernahen Bereichen besonders zahlreich sind. Da in diesen Bereichen die Anhäufung repetitiver Nukleotidsequenzen besonders groß ist, könnte man den Schluß ziehen, daß diese Art des konstitutiven Heterochromatins im Zusammenhang mit der Ausbildung der Fasern zwischen den Chromosomenarmen stehe. (ABUELO und MOORE, 1969)

2.8 Ursachen für die Entstehung der Q - Banden

Die Entdeckung, daß die Anfärbung der Chromosomen mit Quinacrinderivaten ein so konstantes Bandenmuster auf den Chromosomenarmen erzeugt, führte zu umfangreichen Untersuchungen und Überlegungen über die Ursachen dieser Bandenmuster. Im Prinzip wären folgende Ursachen für die Entstehung denkbar:

1) Eine Anlagerung des Farbstoffes an bestimmte räumliche Strukturen des Chromatins,

2) eine bevorzugte Affinität zu bestimmten chemischen Strukturen und

3) ein Zusammenwirken beider Mechanismen.

Der RNS - Gehalt des Chromatins kann für die Entstehung der Bandenmuster nicht verantwortlich sein, da die Behandlung der Chromosomen mit RNase die Bandenmuster nicht beeinflußt, wohl aber die Behandlung mit DNase. (COMINGS, 1972)

2.8.1 Strukturelle Ursachen für die Bandenbildung

Bei der Anwendung der G - Banden - Technik findet durch die verschiedenen Vorbehandlungen offensichtlich eine strukturelle Auflockerung des Euchromatins und eine stärkere Anfärbung der kondensierten heterochromatischen Regionen statt. (COMINGS, 1972) Wahrscheinlich ist dies aber nur ein Nebeneffekt. Wenn bei der Anfärbung mit Quinacrinderivaten eine derartige strukturelle Veränderung auftritt, dann müßte sie durch den Farbstoff selbst bewirkt werden. Die besonders stark kondensierten Zentromerregionen lassen sich jedoch in der Regel mit Quinacrin nur schwach anfärben. (CASPERSSON et al., 1971)

2.8.2 Chemische Ursachen für die Bandenbildung

Bei der Auswahl von Quinacrinderivaten für die Chromosomenfärbung war man davon ausgegangen, daß es sich dabei um Farbstoffe handelt, die eine besondere Affinität zu den Guanin - Basen der DNS besitzen. Speziell für Quinacrin - Mustard erwarteten CASPERSSON und Mitarbeiter einerseits eine Interkalation des Aminoacridin - Gerüstes in die Doppelhelix der DNS und gleichzeitig eine kovalente Bindung der alkylierenden Seitenkette an die Guanin - Base der DNS. Auf diese Weise hofften die Untersucher, die guanin-reichen Abschnitte der DNS selektiv darstellen zu können. Im Verlauf weiterer Untersuchungen mit Fluoreszenzfarbstoffen zeigte sich aber, daß auch nach Anfärbung der Chromosomen mit Quinacrin - Dihydrochlorid die gleichen Bandenmuster dargestellt wurden, obwohl das Quinacrin - Dihydrochlorid

Molekül die alkylierende Seitenkette nicht besitzt. (MODEST, 1973)

Im Jahre 1972 veröffentlichten WEISBLUM und DE HASETH eine Arbeit, in der sie nachweisen konnten, daß AT-reiche Polynukleotide in Lösungen nach Anfärbung mit Quinacrinderivaten stark fluoreszieren, unabhängig davon, ob sie in denaturiertem oder renaturiertem Zustand vorliegen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen von MILLER u.a. (1973) weisen in die gleiche Richtung. Diese Autoren brachten Chromosomenpräparate mit spezifischen Anti - A (Anti - Adenin) und Anti - G (Anti - Guanin) - Seren zusammen und untersuchten die Verteilung der Komplexe entlang der Chromosomenarme mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz. Dabei zeigte sich, daß die mit dem Anti - A - Serum dargestellten Fluoreszenzmuster den Bandenmustern entsprechen, die nach der Anfärbung mit Quinacrinderivaten entstehen. Hingegen zeigten Chromosomen, die mit dem Anti - G - Serum zusammengebracht wurden, gerade an den Abschnitten hell fluoreszierende Banden, die mit Quinacrinderivaten nur schwach angefärbt werden. Voraussetzung für eine Darstellung der Immunfluoreszenzbanden ist eine Denaturierung der chromosomalen DNS in die einzelnen Stränge. Die Autoren konnten jedoch nachweisen, daß der Unterschied der Immunfluoreszenz zwischen Anti - A - und Anti - G - Seren nicht dadurch zustande kommt, daß sich AT-reiche Abschnitte wegen der geringeren Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen leichter denaturieren lassen als GC-reiche Abschnitte.

Andere Befunde deuten jedoch darauf hin, daß ein hoher AT - Gehalt nicht die alleinige Ursache für die Quinacrinfluoreszenz sein kann: Die sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16 enthalten repetitive DNS, die einen hohen AT - Gehalt hat. Diese Bereiche färben sich aber mit Quinacrin nur schwach an. (JONES und CORNEO, 1971)

Bei den Immunfluoreszenzuntersuchungen von MILLER zeigte sich, daß das distale Ende des langen Armes des Y - Chromosoms sich mit Anti - A - Serum nicht darstellen läßt, obwohl es nach Anfärbung mit Quinacrin stark fluoresziert. (MILLER u.a., 1973)

Die Ergebnisse der Untersuchungen von DE LA CHAPELLE mit Nukleinsäurepolymeren deuten darauf hin, daß nicht nur eine Beziehung zwischen AT - Gehalt der DNS und der Quinacrinbindung besteht, sondern auch eine Beziehung zwischen der Anwesenheit repetitiver DNS mit relativ hohem GC - Gehalt und starker Fluoreszenz. Dabei läßt sich aber keine direkte Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität repetitiver DNS vom GC - Gehalt nachweisen. Der entscheidende Faktor für die Quinacrinbindung ist vermutlich jedoch das Muster der Basenrepetition, und nicht die Anzahl der repetitiven Einheiten.
So scheint einerseits die schwache Fluoreszenz der sekundären Konstriktionen trotz des hohen AT - Gehalts der repetitiven DNS von einer bestimmten Basensequenz abhängig zu sein. Andererseits ließe sich die starke Fluoreszenz des Y - Chromosoms durch die Anwesenheit einer repetitiven DNS - ohne hohen AT - Gehalt - mit einer bestimmten Basensequenz erklären, die sich mit Quinacrin stark anfärben läßt. (SELANDER und DE LA CHAPELLE, 1973)

2.8.3 Proteine und Q - Banden

Die Bedeutung der Proteine für die Entstehung der Fluoreszenzmuster ist bisher nicht eindeutig geklärt.
Von einigen Autoren wurde vermutet, daß die Entfernung der F 1 - Histone eine stärkere Bindung des Farbstoffes an bestimmte Chromosomenabschnitte begünstige. (ANGERER und MOUDRIANAKIS, 1972)
Eine Entfernung aller Histon - Proteine bewirkt jedoch keine Änderung der Fluoreszenzmuster.
Durch die Arbeiten von COMINGS u.a. sind hingegen die Nichthiston - Proteine im Zusammenhang mit der Darstellung der Chromosomenbanden in den Mittelpunkt des Interesses gerückt worden. Obwohl bisher direkte Beweise noch ausstehen, sprechen doch einige Anzeichen dafür, daß die Verteilung der Nichthiston - Proteine bei der Ausbildung der Bandenmuster eine Rolle spielt. Es gilt als wahrscheinlich, daß bestimmte Nichthiston - Proteine

erforderlich sind, um den lockeren Zustand des Euchromatins zu erhalten; umgekehrt soll das Fehlen dieser Proteine die Kondensierung zum Heterochromatin bewirken oder eine solche erst ermöglichen. Dafür spricht auch, daß die Entstehung der Bandenmuster nach Anwendung der Giemsa - Technik dadurch erklärt werden kann, daß die Enzyme - Pronase oder Trypsin - bestimmte Proteine selektiv entfernen.

Ob die Bindung spezifischer Proteine an bestimmte Chromosomenabschnitte für die schwache Fluoreszenz dieser Bereiche verantwortlich ist, ist noch ungeklärt. (COMINGS, 1972, 1973; COMINGS et al., 1973, HARBERS und SANDRITTER, 1973)

Obwohl die bis heute vorliegenden Untersuchungen einige Möglichkeiten für die Entstehung der Bandenmuster aufzeigen, ist bisher nicht geklärt, welches chemische oder strukturelle Substrat dafür verantwortlich ist.

Aus den vorliegenden Befunden läßt sich der Schluß ziehen, daß mehrere Ursachen für die Ausbildung der Bandenmuster nach Anfärbung der Chromosomen mit Quinacrinfarbstoffen verantwortlich sein können, die aber nicht notwendig zusammenwirken müssen. Möglicherweise liegt den hell fluoreszierenden Chromosomenabschnitten kein einheitliches Substrat zugrunde.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Untersuchungsmaterial

Es war soeben erwähnt worden, daß durch Anfärbung der Chromosomen mit Quinacrinderivaten reproduzierbare Bandenmuster auf den Chromosomenarmen erzeugt werden können. In der Einleitung wurde bereits darauf hingewiesen, daß darüberhinaus auch individuelle Markierungen an einigen Chromosomenorten beobachtet werden können (genaue Beschreibung siehe Abschnitte 3.4. und 5.2.), die für ein Individuum charakteristisch sind, aber von Mensch zu Mensch variieren. Um zu prüfen, ob die Vererbung dieser polymorphen Chromosomenabschnitte den Mendelschen Gesetzen folgt, oder ob ein besonderes Segregationsverhalten vorliegt, wurde eine Familienuntersuchung durchgeführt.
Die in dieser Arbeit untersuchten Mitglieder der Familien sind phänotypisch unauffällig. Bei der Auswahl der Familien wurde darauf geachtet, daß sie mindestens zwei, möglichst aber mehr Kinder haben sollten. Ein Teil des Materials stammt von Familien, die im hiesigen Institut serologisch untersucht, und lediglich im Rahmen dieser Arbeit chromosomal mituntersucht wurden, nachdem bei einzelnen Familienmitgliedern in einer Routineuntersuchung stark fluoreszierende Abschnitte an einzelnen Chromosomen beobachtet worden waren.
Insgesamt wurden zehn Familien untersucht, von denen fünf mit insgesamt 28 Individuen für diese Arbeit ausgewählt wurden. Als Kriterium für die Auswahl diente dabei lediglich die technische Qualität der Präparate, da besonders für die Beurteilung der schwach fluoreszierenden Polymorphismen hohe Anforderungen an die Qualität der Präparate zu stellen sind.
In den fünf Familien, die in den hier gezeigten Abbildungen und Tabellen nicht berücksichtigt sind, zeigten sich keine Befunde, die den hier beschriebenen Befunden widersprochen hätten.

3.2. Präparation

Die Chromosomenpräparation wurde nach modifizierter Technik von MOORHEAD und ARAKAKI durchgeführt. 7 Tropfen heparinisierten peripheren Vollblutes werden innerhalb von 12 Stunden in 2,5 ml eines Kulturmediums gegeben.
Das Kulturmedium setzt sich zusammen aus einer isotonischen Salzlösung, tierischem und menschlichem Plasma oder Serum und Antibiotika. Die angesetzte Chromosomenkultur verbleibt 72 Stunden bei 37° C im Brutschrank, wobei einmal täglich umgeschüttelt wird, um ein zu festes Anhaften des Zellmaterials am Boden der Kulturflaschen zu vermeiden. 3 Stunden vor Kulturende werden o,o3 ml Colcemid der Kultur zugesetzt.
Nach der Umfüllung in Zentrifugenröhrchen wird mit 6oo U/min 5 Minuten lang zentrifugiert und bis auf einen geringen Überstand abpipettiert; dann werden 7 ml o,56 % KCL,auf 37° C erwärmt, hinzugegeben. Durch die hypotone Behandlung wird eine Quellung der Zellen und der Zellkerne erreicht, so daß beim Aufbringen auf den Objektträger die Zellen platzen, und häufig die Mitosen weit ausgebreitet vorgefunden werden.
Das Waschen der Zellen in Hank'scher Lösung entfällt bei dieser Präparationstechnik. Dann wird bei 6oo U/min 5 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird vollständig abgehoben und der Rest vorsichtig mit 1 ml frisch angesetztem Fixativ (Methanol - Eisessig 3 : 1) überschichtet.
Nach kurzer Einwirkung (1 Minute) schüttelt man behutsam durch. Dieser Arbeitsgang (Überschichten, Umschütteln, Zentrifugieren) wird dreimal durchgeführt. Danach füllt man das Zellsediment mit Fixativ bis 1 ml auf, bläst durch, und läßt es auf vorbereitete eiskalte Objektträger auftropfen.
Anschließend werden die Präparate an der Luft getrocknet.
(MOORHEAD et al., 196o; ARAKAKI und SPARKES, 1963)

3.3. Färbung

Die zuerst untersuchten Präparate wurden 45 Minuten lang mit Quinacrin - Dihydrochlorid o,5 % angefärbt und anschließend 3o Minuten in stehendem Leitungswasser gewässert. Später wurde mit Quinacrin - Mustard o,o5 % 3o Minuten gefärbt und 2o Minuten gewässert.
Es zeigte sich, daß die Fluoreszenzen mit beiden Farbstoffen gut darzustellen waren. Allerdings lassen sich die typischen Banden auf den Chromosomenarmen mit Quinacrin - Mustard deutlicher und besser darstellen, was die Identifizierung der Chromosomen wesentlich erleichtert. Darüberhinaus erwiesen sich die mit Mustard gefärbten Präparate als weniger empfindlich gegen die ausbleichende Wirkung des UV - Lichtes.
Eine Lagerung bis zu zwei Monaten nach der Präparation der Mitosen beeinflußt die Qualität der Präparate nicht wesentlich. Man sollte jedoch darauf achten, daß die Präparate während der Lagerung gut vor Staub und Licht geschützt werden. In jedem Falle empfiehlt es sich, die Anfärbung erst unmittelbar vor der Auswertung unter dem Mikroskop durchzuführen. Nach Trocknung der gefärbten Präparate an der Luft wurden sie mit Phosphatpuffer pH 7,o eingedeckt.
Nach Entfernen des Deckglases ist eine erneute Anfärbung möglich. Allerdings sollte das Präparat vor dem Ablösen des Deckglases einige Minuten in Methanol stehen und nach Entfernung des Deckglases zur Reinigung kurz mit Methanol abgespült werden.

3.4. Auswertung

Die Betrachtung der Präparate erfolgte in Ölimmersion unter einem Zeiss - Universal - Auflichtmikroskop mit Neofluoarobjektiven (Vergrößerung 63- und 1oo-fach) unter Verwendung eines Erregerfilters BG 12 und eines Sperrfilters 53o. Als Lichtquelle diente eine HBO 2oo Quecksilberlampe.
Im Verlauf der Untersuchungen wurde die Erregerfilterkombination FL 436/17 und KP 5oo eingeführt. Der wesentliche Vorteil dieser Filterkombination besteht darin, daß die Präparate während der

Betrachtung weniger ausbleichen und somit mehr Zeit zur Beurteilung und zum Photographieren der Mitosen verbleibt.
Zur Auswertung und Dokumentation wurden die Mitosen photographiert. Dabei wurde zunächst ein Kodak - Tri - X - Film (27 DIN) verwandt, der je nach Qualität der Mitose eine Belichtungszeit zwischen 3o Sekunden für stark kontrahierte Chromosomen und wenig ausgebreitete Mitosen, und 6o Sekunden für wenig kontrahierte Chromosomen und gut ausgebreitete Mitosen erforderte. Später wurde ein Illford - FP - 4 - Film (21 DIN) benutzt. Dieser Film liefert wegen des feineren Kornes schärfere Bilder. Die Belichtungszeiten brauchten wegen der Verbesserung der Anregung und der neuen Filterkombination nicht verlängert zu werden.

Von jedem Fall wurden zehn Mitosen ausgewertet, bei denen mindestens in sieben die einzelnen Chromosomengruppen und Chromosomen eindeutig zu identifizieren sein mußten. Bei den übrigen war immer noch eindeutig zu entscheiden, ob besondere Fluoreszenzen an den Chromosomen der D - bzw. G - Gruppe vorhanden waren.
Lediglich in drei Fällen (Fälle 285, 278 und 282) gelang es trotz wiederholten Ansatzes einer Blutkultur nicht, mehr als drei Bilder zu erhalten, auf denen die einzelnen Chromosomen eindeutig zu identifizieren waren. Allerdings ließen sich auch auf den Bildern mit schlechterer Qualität die einzelnen Chromosomengruppen gut unterscheiden.
Als Vergleichsmaßstab für die Beurteilung der Intensität der Fluoreszenz eines bestimmten Chromosomenabschnittes kann sowohl die Fluoreszenz des Y - Chromosoms bei männlichen Individuen als auch das stark fluoreszierende distale Ende des langen Armes der Chromosomen 13 und 21 herangezogen werden. Diese Chromosomenabschnitte fluoreszieren bei allen Individuen stark und zeigen hinsichtlich der Fluoreszenzintensität keinen Polymorphismus. Daher können diese Abschnitte auch sehr gut zur Beurteilung der Lichtverhältnisse in der gesamten photographierten Mitose herangezogen werden.

4. ERGEBNISSE

Polymorphes Verhalten nach Anfärbung mit Quinacrinfarbstoffen zeigen die metazentrischen bzw. submetazentrischen Chromosomen 3 und 4, sowie die akrozentrischen Chromosomen der D - und G - Gruppe.
An Chromosom Nr. 3 ist bei vielen Individuen ein stark fluoreszierender Fleck im zentromernahen Bereich vorhanden. Die Fluoreszenzintensität der Zentromerregion ist in diesen Fällen mit der auf dem langen Arm des Y - Chromosoms vergleichbar und deutlich stärker als die der benachbarten Chromosomenabschnitte. Im Bereich dieses hellen Fleckens lassen sich die beiden nebeneinanderliegenden Chromatiden nicht unterscheiden. Häufiger scheint dieser stark fluoreszierende Fleck auf dem langen Chromosomenarm lokalisiert zu sein, indem er zum Zentromer hin scharf begrenzt ist, während der Übergang zum anderen Chromosomenarm fließend ist. Die Verschiedenen Variationen an Chromosom Nr. 3 sind in Abb. 1 links oben zusammengestellt.
In anderen Fällen ist der Fleck jedoch schmal und nach beiden Seiten hin scharf begrenzt, so daß er zwischen den Chromosomenarmen im Bereich des Zentromers zu liegen scheint.
Letzteres ist besonders bei lang ausgezogenen, wenig kontrahierten Chromosomen der Fall.
Allerdings ist die Form des Fleckes innerhalb verschiedener Mitosen eines Individuums nicht absolut konstant, so daß sie möglicherweise durch den Kontraktionszustand, die Präparation oder die Färbung beeinflußt wird. Die Anwesenheit bzw. das Fehlen eines derartigen Fleckes ist jedoch ein typisches individuelles Merkmal.

Chromosom Nr. 4 zeigt in der Regel keine hell fluoreszierenden Abschnitte. Bei einigen Individuen erscheint jedoch als typisches Merkmal im zentromernahen Bereich auch an diesem Chromosom ein stärker fluoreszierender Fleck, der sich eindeutig dem kurzen Arm des Chromosoms zuordnen läßt, und der zum Zentromer hin durch eine dunkle Bande deutlich abgegrenzt ist. In Abb. 1

sind rechts oben Chromosom Nr. 4 mit und ohne fluoreszierenden Fleck nebeneinandergestellt. Die Intensität der Fluoreszenz ist jedoch schwächer als die des hellen Fleckes an Chromosom Nr. 3 oder der anderen stark fluoreszierenden Chromosomenabschnitte.

Ein komplexes Bild polymorpher Chromosomenabschnitte findet sich an den akrozentrischen Chromosomen der D - und G - Gruppe. An diesen Chromosomen kommt der Polymorphismus einerseits als Variation stark fluoreszierender Abschnitte und andererseits als Variation schwach fluoreszierender Strukturen zum Ausdruck. Insgesamt können folgende Regionen variable Ausbildung zeigen: 1. Die Zentromerregion, 2. der proximale Abschnitt der kurzen Arme, 3. die Satellitenstiele und 4. die Satelliten selbst. Ein häufig zu beobachtendes Merkmal ist ein homogener, stark fluoreszierender Fleck im Bereich der Zentromerregion des Chromosoms Nr. 13. Die Intensität der Fluoreszenz entspricht in diesen Fällen derjenigen des distalen Endes der langen Arme dieses Chromosoms. In anderen Fällen erscheint die Zentromerregion als dunkle Bande, und die hell fluoreszierenden Abschnitte liegen eindeutig im Bereich des proximalen Anteils der kurzen Arme. Die parallel liegenden Chromatiden lassen sich in diesem Bereich dann gut unterscheiden.
Als dritte Variation an diesem Chromosom ist in dem von mir untersuchten Material bei einigen Individuen eine deutliche Fluoreszenz der Satelliten zu beobachten, deren Intensität jedoch schwächer ist, als diejenige der anderen stark fluoreszierenden Chromosomenabschnitte. Die verschiedenen Variationen an Chromosom Nr. 13 sind in Abb. 1 in der zweiten Reihe von oben zusammengestellt.

Bei den hier untersuchten Personen findet sich kein Chromosom Nr. 14, an dem hell fluoreszierende Abschnitte vorhanden sind. Allerdings können an diesem Chromosom Variationen der schwach fluoreszierenden Strukturen der kurzen Arme beobachtet werden. Eine Übersicht über die verschiedenen Variationen gibt die dritte Reihe von oben der Abb. 1. Bei einigen Individuen stellt sich der

Satellitenstiel verhältnismäßig lang dar, so daß die Satelliten weit vom Zentromer entfernt liegen. In anderen Fällen zeigt der lang ausgezogene kurze Arm eine dunkle Bande, die wie eine zusätzliche sekundäre Konstriktion erscheint, so daß dieses Chromosom durch Doppelsatelliten markiert ist.

An Chromosom Nr. 15 erscheinen als individuelle Merkmale sowohl stark fluoreszierende Abschnitte als auch Variationen der schwach fluoreszierenden kurzen Arme. (Abb. 1, vierte Reihe von oben)
In einigen Fällen zeigt sich an diesem Chromosom ein hell fluoreszierender Abschnitt im Bereich des distalen Endes der kurzen Arme, so daß der Eindruck von hell fluoreszierenden Satelliten entsteht. Die Intensität entspricht der starken Fluoreszenz des Chromosoms Nr. 13 oder der des Y - Chromosoms.
Als zweite Variation ist bei einigen Individuen auch an diesem Chromosom die Ausbildung von Doppelsatelliten zu beobachten.

Die Chromosomen 21 und 22 zeigen einerseits Variationen im Bereich der Satellitenregion in Form von stark fluoreszierenden Satelliten. Andererseits lassen sich auch an diesem Chromosom Variationen schwach fluoreszierender Strukturen in Form von Doppelsatelliten beobachten.
Die Chromosomen 21 und 22 sind in Abb. 1 in der untersten Reihe links bzw. rechts zusammengestellt.

Abb. 1:

In der ersten Reihe ganz links ein normales Chromosom Nr. 3, daneben ein Chromosom mit stark fluoreszierendem Fleck auf einem Arm und eines, bei dem der stark fluoreszierende Fleck im Zentromerbereich liegt.

Rechts oben ein normales Chromosom Nr. 4 neben einem mit fluoreszierendem Fleck auf dem kurzen Arm.

In der zweiten Reihe von oben links ein normales Chromosom Nr. 13, daneben je eines mit fluoreszierendem Zentromer, mit fluoreszierenden Satelliten und mit fluoreszierendem proximalen Abschnitt der kurzen Arme.

In der dritten Reihe von oben links ein normales Chromosom Nr. 14, daneben eines mit lang ausgezogenen kurzen Armen und eines mit Doppelsatelliten.

In der vierten Reihe von oben links ein normales Chromosom Nr. 15, daneben eines mit stark fluoreszierenden Satelliten und eines mit Doppelsatelliten.

In der untersten Reihe ganz links ein normales Chromosom Nr. 21, daneben eines mit Doppelsatelliten und eines mit stark fluoreszierenden Satelliten.

Rechts unten ein normales Chromosom Nr. 22 neben einem mit Doppelsatelliten und einem mit stark fluoreszierenden Satelliten.

Die hier beschriebenen Variationen sind typische Merkmale der Chromosomen eines Individuums. Dabei scheinen die einzelnen Variationen in recht unterschiedlicher Häufigkeit aufzutreten.
So sind die stark fluoreszierenden Abschnitte an den Zentromerregionen der Chromosomen 3 und 13 in allen hier untersuchten Familien zu beobachten, während die starke Fluoreszenz an Chromosom 4 nur in einer Familie zu sehen ist.

In der Tabelle 2 sind die verschiedenen Variationen der einzelnen untersuchten Personen zusammengestellt.
Die Übersicht zeigt, daß sich die Individuen nicht nur in der Verteilung der polymorphen Abschnitte an den einzelnen Chromosomen unterscheiden, sondern auch durch den gesamten Gehalt des Karyotyps an polymorphen Abschnitten. Das gilt sowohl für die stark fluoreszierenden wie auch für die schwach fluoreszierenden Variationen.

Aus der Tabelle läßt sich auch ersehen, daß die Anzahl der beiden Variationen unabhängig voneinander ist.
So zeigt sich in einem Fall nur ein stark fluoreszierender Abschnitt (Fall 327), in einem anderen Fall nur eine schwach fluoreszierende Variation (Fall C 7o). In Fall 322 erscheinen dagegen zwei schwach fluoreszierende Variationen neben vier stark fluoreszierenden.
Die Gesamtmenge des stark fluoreszierenden Materials in den polymorphen Chromosomenabschnitten ist also nicht konstant.

Fall:	Chromosom Nr.: 3/3	4/4	13/13	14/14	15/15	21/21	22/22	Gesamtvariation
3o1 Vater	+			o		+		++o
3o2 Mutter	+		+		+ o			+++o
256 Kind ♂	+ +				o			++o
3o4 Kind ♂			+		o	+		++o
322 Vater	+	+	+	o	o	+		++++oo
323 Mutter	+			o	o		o	+ooo
326 Kind ♂	+		+	o	o			++oo
327 Kind ♂						+		+
325 Kind ♀		+		o o	o o		o	+ooooo
C12 Kind ♂	+	+	+	o		+	o	++++oo
338 Kind ♀	+ +		+		o			+++o
LO Kind ♂	+				o			+o
VS Vater			+		o	+	+	+++o
MS Mutter	+				o			+o
C71 Kind ♀			+			+	+	+++
C7o Kind ♂					o			o

Fall:	Chromosom Nr.: 3/3	4/4	13/13	14/14	15/15	21/21	22/22	Gesamtvariation
3o5 Vater	+			o				+o
3o6 Mutter	+		+	o			+	+++o
3o7 Kind ♀	+ +			o			+	+++o
3o9 Kind ♀	+		+	o				++o
3o8 Kind ♂	+ +			o			+	+++o
3o3 Kind ♀	+ +		+	o			+	++++o
281 Vater	+ +			o	+			+++o
283 Mutter	+ +		+		o			+++o
285 Kind ♀	+ +				+			+++
278 Kind ♂	+ +				+			+++
282 Kind ♀	+ +		+		o			+++o
279 Kind ♂	++		+	o	+			++++o

Tabelle 2 zeigt eine Zusammenstellung der Variationen bei den untersuchten Personen. Stark fluoreszierende Variationen sind als +, schwach fluoreszierende Variationen als o dargestellt.

Ein Beispiel für die Verteilung der polymorphen Chromosomen innerhalb einer Familie ist in Abb. 2 dargestellt.
Keine der beschriebenen Variationen, sowohl der stark fluoreszierenden Chromosomenabschnitte, als auch der schwach fluoreszierenden kurzen Arme der akrozentrischen Chromosomen der D - und G - Gruppe, sind bei den Kindern der untersuchten Familien spontan aufgetreten; immer findet sich die entsprechende Variation auch zumindest bei einem der beiden Elternteile.
Die polymorphen Chromosomenabschnitte können bei den Individuen sowohl homozygot als auch heterozygot auftreten. Voraussetzung für homozygotes Auftreten ist jedoch, daß bei beiden Eltern zumindest an einem der betroffenen Chromosomen die entsprechende Variation vorliegen muß.
Sind bestimmte Variationen nur bei einem Elternteil vorhanden, sei es homo- oder heterozygot, so sind sie bei den Kindern im ersten Falle stets heterozygot, im zweiten Falle sind sie heterozygot oder gar nicht vorhanden.
Die Verteilung der Variationen innerhalb der Familien entspricht der erwarteten Verteilung nach den mendelschen Regeln. Eine bevorzugte Weitergabe bestimmter polymorpher Chromosomen ist aus dem Untersuchungsmaterial nicht zu erkennen.

Die beschriebenen Polymorphismen markieren bestimmte Chromosomen eines Individuums und erlauben in bestimmten Fällen, nämlich dann, wenn eine Variation bei einem Kind vorhanden ist, und diese Variation nur bei einem der beiden Elternteile vorliegt, eine eindeutige Bestimmung der Herkunft des kindlichen Chromosoms vom entsprechenden Elternteil. Das gleiche gilt auch umgekehrt für das Fehlen bestimmter Merkmale an einem der Elternchromosomen. Ein Beispiel dafür zeigt Abb. 2.

Abb.

Zusammenstellung der polymorphen Chromosomen innerhalb einer Familie. Die Chromosomen des Vaters, die an die Kinder vererbt wurden, sind durch Pfeile markiert.

5. DISKUSSION

5.1. Häufigkeit des Polymorphismus

Auch mit konventionellen Färbemethoden sind bisher häufig Variationen der akrozentrischen Chromosomen und des Y - Chromosoms erfaßt worden. Allerdings lassen sich mit der Orcein - Färbung nur Längenvariationen darstellen. (LUBS und RUDDLE, 1971; GIGLIANI et al., 1972)
Mit der C - Banden - Technik lassen sich auch Variationen in den Zentromerregionen der Chromosomen und im Bereich der sekundären Konstriktionen der Chromosomen 1, 9 und 16 erfassen. Auch bei diesen Variationen handelt es sich um Längenvariationen stark gefärbter Abschnitte. (CRAIG-HOLMES et al., 1973)
Mit der in dieser Untersuchung angewandten Fluoreszenzfärbung lassen sich neben den schwach fluoreszierenden Längenvariationen der Strukturen der kurzen Arme der akrozentrischen Chromosomen auch Variationen der Intensität der Anfärbung bestimmter Chromosomenabschnitte darstellen.
Über die Häufigkeit der einzelnen Variationen lassen sich anhand des hier untersuchten Materials keine statistisch relevanten Aussagen machen, da einerseits die Gesamtzahl der untersuchten Personen relativ klein ist und andererseits durch die Auswahl von Familien ein Zusammenhang zwischen den einzelnen Individuen besteht.
Untersuchungsergebnisse über die Häufigkeit der Fluoreszenzvariationen sind kürzlich von SCHNEDL veröffentlicht worden. Auf der Grundlage von 1oo untersuchten Fällen konnte SCHNEDL nachweisen, daß die beobachtete Häufigkeit des homozygoten und heterozygoten Vorkommens des stark fluoreszierenden Abschnittes an Chromosom Nr. 3 mit der Verteilung übereinstimmt, die für eine erbliche Eigenschaft erwartet werden kann.
Anhand von 5o untersuchten Fällen zeigte sich, daß die stark fluoreszierenden Zentromerregionen des Chromosoms Nr. 13 mit 54 % und des Chromosoms Nr. 3 mit 5o % die häufigsten Variationen sind. Bei den akrozentrischen Chromosomen erscheinen die

Variationen der Satellitenregionen wesentlich häufiger als die Variationen der kurzen Arme. (SCHNEDL, 1974)
Diese Angaben sind durchaus vereinbar mit den Befunden, die sich aus dem hier untersuchten Material ergeben.

5.2. Q - Banden, polymorphe Abschnitte und Heterochromatin

Im folgenden Abschnitt soll diskutiert werden, inwieweit sowohl das Chromatin im Bereich der Q - Banden als auch das Chromatin der polymorphen Chromosomenabschnitte der eingangs gegebenen Definition von Heterochromatin entsprechen. Gemäß dieser Definition bleibt Heterochromatin auch während der Interphase des Zellkernes heteropyknotisch nachweisbar; es ist genetisch inert und vollzieht seine Replikation außerhalb der Phase des Euchromatins.

5.2.1. Darstellung im Interphasekern

In Abschnitt 2.3. wurde bereits darauf hingewiesen, daß das Chromatin, das in den Chromosomenabschnitten lokalisiert ist, die als Q - Banden erscheinen, in der Literatur üblicherweise als Heterochromatin bezeichnet wird. Ob diese Abschnitte auch während der Interphase im heteropyknotischen Zustand vorliegen, ist kaum zu beurteilen. Der Interphasekern zeigt nach Quinacrinfärbung teils bröckelige, teils wolkige diffuse Strukturen, die sich nicht bestimmten Abschnitten der Metaphasechromosomen zuordnen lassen.
Sowohl bei männlichen wie auch bei weiblichen Individuen lassen sich jedoch im Interphasekern stets stärker kondensierte Partikel nachweisen, die bei weiblichen Individuen als sogenannte Barr-Körperchen dem genetisch inaktiven X - Chromosom entsprechen. Bei männlichen Individuen entsprechen die Partikel - die sich nur in der Quinacrinfärbung darstellen lassen und als "y - body" bezeichnet werden - dem Y - Chromosom. Dieser Zellabschnitt ist im Gegensatz zum Barr-Körperchen aber - entsprechend der starken Y - Markierung - präferentiell angefärbt. Das Barr-Körperchen erscheint als einheitliches, rundliches, meist

randständiges fluoreszierendes Partikel, während das Y - Chromosom im Interphasekern als stärker fluoreszierendes, oft zwei- oder dreigeteiltes Bröckchen erscheint. (SCHWINGER und PERA, 1972)
Außer diesem auffälligen Fluoreszenzverhalten im Interphasekern zeigt das Chromatin der Heterosomen auch während der Meiose einige Besonderheiten.
Bei einigen Spezies, bei denen die männlichen Individuen ein XO - Muster haben, läßt sich nachweisen, daß sich das X - Chromosom während der Spermatogenese anders verhält, als die übrigen Chromosomen. Es befindet sich dann im Zustand einer negativen Heteropyknose. In späteren Stadien der Spermatogenese verschwindet diese negative Heteropyknose wieder, und während der ersten meiotischen Teilung wird das X - Chromosom positiv heteropyknotisch.
Dieses Heterochromatin wird auch als "semifakultatives" Heterochromatin bezeichnet.
Üblicherweise wird das Chromatin auf dem langen Arm des Y - Chromosoms dem konstitutiven Heterochromatin zugeordnet, ungeachtet seines hemizygoten Vorkommens. Während der Meiose, im Pachytaen - Stadium, ist es dicht mit dem X - Chromosom zusammengelagert und bildet so mit diesem das sogenannte "sex vesicle". In diesem Zustand zeigen beide Chromosomen eine besondere Art von Chromatinkondensation, die weniger kompakt als die des konstitutiven Heterochromatins, aber kompakter ald die des Euchromatins ist. (COMINGS, 1972)
Bei Individuen, deren Metaphasechromosomen stark fluoreszierende autosomale Chromosomenabschnitte zeigen, sind im Interphasekern zusätzlich stark fluoreszierende Partikel zu beobachten. (CASPERSSON et al., 197o a; SCHWINGER und WEIZEL, 1972)
Diese zusätzlichen Partikel sind dann vorhanden, wenn akrozentrische Chromosomen stark fluoreszierende Abschnitte im Bereich der Zentromerregionen oder der kurzen Arme zeigen. Stark fluoreszierende Abschnitte der Chromosomen 3 und 4 lassen sich hingegen im Interphasekern nicht nachweisen. (SCHWINGER et al., 1974) Das Chromatin der variablen schwach fluoreszierenden

Chromosomenabschnitte erscheint in der Quinacrinfärbung weder in der Metaphase noch im Interphasekern heteropyknotisch.

5.2.2. Replikation der DNS

Die Befunde der Autoradiographie sprechen dafür, daß auch in den Bereichen der Q - Banden und der polymorphen Chromosomenabschnitte spätreplizierendes Chromatin enthalten ist. Obwohl sich bei der Auswertung der autoradiographischen Untersuchung dicht nebeneinanderliegende Banden nur schwer unterscheiden lassen, scheint doch eine enge Beziehung zwischen der Lokalisation der fluoreszierenden Banden und dem spätreplizierenden Chromatin der Chromosomenarme zu bestehen. Ob den beschriebenen variablen Chromosomenabschnitten auch ein variables Replikationsmuster entspricht - ob die stark fluoreszierenden Abschnitte noch später replizieren als die entsprechenden weniger stark fluoreszierenden Abschnitte der homologen Chromosomen - läßt sich mit den bisher üblichen Methoden der Autoradiographie nicht eindeutig erfassen, allerdings ist in allen Chromosomenabschnitten, die Polymorphismus zeigen, spätreplizierendes Chromatin lokalisiert. (GANNER und EVANS, 1971)
Auf Grund des Replikationsverhaltens und der Darstellung im Interphasekern muß zumindest das Chromatin der variablen stark fluoreszierenden Abschnitte der akrozentrischen Chromosomen, ungeachtet seines hemizygoten Vorkommens, dem konstitutiven Heterochromatin zugeordnet werden.

5.2.3. Genetische Aktivität

Über die genetische Aktivität bestimmter Abschnitte der menschlichen Chromosomen können nur Vermutungen angestellt werden. In Teil 2.7. dieser Arbeit wurde bereits darauf hingewiesen, daß Chromosomenabschnitte, in denen viel repetitive oder AT-reiche DNS nachgewiesen ist, auf Grund des geringen Informationsgehaltes keine unmittelbare genetische Aktivität erwarten lassen. Repetitive DNS und hoher AT - Gehalt sind zwar in den fluores-

zierenden und polymorphen Chromosomenabschnitten nachgewiesen, aber nicht allein auf diese beschränkt, so daß man das Fluoreszenzmuster als Abbild der Verteilung genetisch inaktiver Chromosomenabschnitte bezeichnen könnte. (COMINGS, 1972; SAUNDERS et al., 1972)

Für eine zumindest eingeschränkte genetische Aktivität der in dieser Untersuchung beschriebenen polymorphen Chromosomenabschnitte spricht auch die Tatsache, daß den auffälligen Fluoreszenzmustern in den polymorphen Stellen keine Veränderungen des Phänotyps zugeordnet werden können.

Von einigen Autoren sind bei der Chromosomenuntersuchung geistig retardierter Kinder polymorphe, stark fluoreszierende Chromosomenabschnitte beobachtet worden. (CASPERSSON et al., 197o e) Bei Personen mit abnormen psychischen Verhaltensweisen sind Strukturvariationen an den Satelliten beobachtet worden, ohne daß Mitteilungen über das Fluoreszenzverhalten dieser Abschnitte bisher vorliegen. (SINHA und BEJAR, 1968; ROSENKRANZ et al., 1971)

Angesichts der Häufigkeit, mit der diese Polymorphismen auch bei phänotypisch unauffälligen Personen beobachtet werden, scheint es sich jedoch um einzelne Zufallsbefunde zu handeln. In diesem Zusammenhang erscheint es auch bemerkenswert, daß Trisomien der Chromosomen D 13, E 18 und G 21 - das sind die Chromosomen, die innerhalb ihrer Gruppen relativ viel stark fluoreszierendes und spätreplizierendes Chromatin enthalten - bei Menschen häufiger gefunden werden und seltener zu Frühaborten führen, als Trisomien der schwächer fluoreszierenden Chromosomen D 14, 15, E 16 und F 19, 2o. Daraus ließe sich schließen, daß eine Zunahme an genetisch inaktivem Chromatin weniger deletär wäre als eine Vermehrung des genetisch aktiven Chromatins. (PAWLOWITZKI, 1972)

Bezüglich der Darstellung bestimmter Chromosomenabschnitte nach Anfärbung mit Quinacrin - Farbstoffen im Interphasekern dürfte eigentlich nur das Chromatin als konstitutives Heterochromatin bezeichnet werden, das im distalen Bereich des langen Armes des Y - Chromosoms und in den polymorphen, stark fluoreszierenden

Abschnitten der akrozentrischen Chromosomen lokalisiert ist. Auf Grund des Replikationsverhaltens läßt sich darüberhinaus das Chromatin der hell fluoreszierenden Banden und der schwach fluoreszierenden polymorphen Chromosomenabschnitte dem Heterochromatin zuordnen, ungeachtet des hemizygoten Vorkommens der einzelnen Variationen. Obwohl über die genetische Aktivität dieser Chromosomenabschnitte nur Vermutungen angestellt werden können, sprechen doch einige Befunde dafür, daß in diesen Abschnitten genetisch inaktives Chromatin lokalisiert ist.

In Teil 2 dieser Arbeit wurde bereits darauf hingewiesen, daß sich konstitutives Heterochromatin durch Besonderheiten seiner Struktur und Funktion sehr wohl vom Euchromatin unterscheiden läßt. An dieser Stelle soll noch einmal darauf hingewiesen werden, daß Heterochromatin keine einheitliche Struktur und Funktion hat, und daß die Vielfalt, die den Inhalt des Begriffes ausmacht, sich nicht in einer kurzen Definition erfassen läßt. Heterochromatin ist keine homogene Substanz; vielmehr sind unter diesem Begriff eine Vielzahl unterschiedlicher Chromosomenabschnitte zusammengefaßt, von denen nach Quinacrinfärbung nur ein Teil als Heterochromatin erscheint.

5.3. Ursachen des Polymorphismus

In dem Abschnitt über die Ursachen der Bindung der Quinacrinfarbstoffe (Teil 2.8.) wurde die besondere Bedeutung des AT - Gehaltes der DNS und die Anwesenheit einer spezifischen repetitiven DNS mit großer Affinität für diese Farbstoffe herausgestellt. Aus dem dort Gesagten lassen sich daher folgende Ursachen für die Entstehung polymorpher, stark fluoreszierender Chromosomenabschnitte ableiten:

1) Eine Vermehrung der AT-reichen DNS an bestimmten Chromosomenabschnitten,

2) die Anwesenheit einer spezifischen repetitiven DNS mit großer Affinität für Quinacrinfarbstoffe, ähnlich der DNS des stark fluoreszierenden Y - Chromosoms, die nicht notwendigerweise mit einer Vermehrung der DNS verbunden sein muß, und

3) die Vermehrung einer stark fluoreszierenden repetitiven DNS.

Für eine Beteiligung der Proteine an der Ausbildung der polymorphen Fluoreszenzmuster liegen bisher keine Hinweise vor.

Bei den Immunfluoreszenzuntersuchungen von MILLER, die einen Zusammenhang von AT - Gehalt und Fluoreszenz der Chromosomenabschnitte aufzeigen, sind bisher keine polymorphen Chromosomenabschnitte beschrieben worden. (MILLER et al., 1973) Ein veränderter AT - Gehalt an bestimmten Chromosomenabschnitten scheint demnach bei der Entstehung der Fluoreszenzpolymorphismen keine Rolle zu spielen.
Da alle stark fluoreszierenden Chromosomenabschnitte reich an repetitiver DNS sind, liegt die Vermutung nahe, daß es wegen der häufig wiederholten Basensequenzen an derartigen Chromosomenabschnitten durch ungleiches "crossing-over" zu einer Vermehrung der DNS kommt. (CRAIG-HOLMES und SHAW, 1971 b)
So werden auch die erblichen Längenvariationen des Y - Chromosoms, die stets den stark fluoreszierenden Anteil betreffen, darauf zurückgeführt. (SCHNEDL, 1971)
Bei Untersuchungen des DNS - Gehaltes der Chromosomen konnte beobachtet werden, daß bei einem Chromosom 21 mit stark fluoreszierenden Satelliten der DNS - Gehalt um 1o % höher lag, als bei dem nicht fluoreszierenden Homologen. (MENDELSOHN et al., 1973)
Für eine Beteiligung der repetitiven DNS an der Entstehung der polymorphen Fluoreszenzmuster spricht auch die Beobachtung, daß bei Anwendung der C - Banden - Technik die Heterochromatinregionen der Zentromere, die reich an repetitiver DNS sind, polymor-

phes Verhalten zeigen. (CRAIG-HOLMES et al., 1973)
Allerdings soll an dieser Stelle noch einmal auf das unterschiedliche Verhalten der polymorphen stark fluoreszierenden Chromosomenabschnitte bei der Anfärbung des Interphasekernes hingewiesen werden. (s. Kapitel 5.2.1) Demnach könnten unterschiedliche Ursachen für die Entstehung der stark fluoreszierenden Markierungen an den verschiedenen Chromosomen verantwortlich sein. Dabei ist die Vermehrung der repetitiven DNS möglicherweise die Ursache für die stark fluoreszierenden Variationen einiger akrozentrischer Chromosomen, während die stark fluoreszierenden Variationen anderer Chromosomen nicht durch eine Vermehrung der repetitiven DNS, sondern möglicherweise durch ein bestimmtes Replikationsmuster bedingt sein könnten. (s. Kapitel 2.8.)
Die akrozentrischen Chromosomen tragen im Bereich der kurzen Arme die Nukleolus - Organisator - Region. Dieser Bereich ist ebenfalls reich an repetitiver und ribosomaler DNS, die sich jedoch mit Quinacrinfarbstoffen nur schwach anfärben läßt. (SCHNEDL, 1974)
Als Ursache für die Verlängerung dieser schwach fluoreszierenden kurzen Arme, die nicht mit einer quantitativen Änderung des genetischen Materials verbunden ist, und die sich auch mit der Orcein - Färbung darstellen läßt, wird von einigen Autoren das Auftreten von erblichen sekundären Konstriktionen oder eine perizentrische Inversion des betroffenen Chromosoms diskutiert. (GOLOMB et al., 1971)
Das Auftreten von Doppelsatelliten an den akrozentrischen Chromosomen könnte durch Translokation von Satelliten innerhalb dieser Chromosomengruppen bedingt sein, ohne Änderung des Chromatingehaltes im gesamten Genom. (ROCCHI et al., 1971; GIGLIANI et al., 1972)
In dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, daß die beschriebenen Polymorphismen nicht spontan auftreten, sondern vererbt werden. Demnach muß man annehmen, daß die Variationen der Chromosomen irgendwann in der phylogenetischen Entwicklung aufgetreten und dann während der weiteren Entwicklung konserviert

worden seien.
Einen Hinweis darauf geben auch vergleichende zytogenetische Untersuchungen. Dabei zeigte sich, daß polymorphe, stark fluoreszierende Chromosomenabschnitte unter den Säugern, außer beim Menschen, nur bei wenigen hochentwickelten Primaten - bei Schimpansen und Gorillas - beobachtet wurden. Aus diesen Befunden und der Übereinstimmung der fluoreszierenden Bandenmuster einiger Chromosomen wurde der Schluß gezogen, daß der Karyotyp des Menschen sowie der Karyotyp der erwähnten Primaten sich aus einem gemeinsamen Karyotyp eines gemeinsamen Vorfahren ("common ancestor") entwickelt haben, dessen Chromosomensatz aus 48 Chromosomen bestand. (PEARSON, 1973)
Als Ursache für das spezifische Bandenmuster der menschlichen Chromosomen sowie die Reduktion der Anzahl der Chromosomen auf 46 wird von einigen Autoren angenommen, daß zumindest eine Fusion zweier ungleicher akrozentrischer Chromosomen, sowie acht perizentrische Inversionen und eine Vermehrung der sekundären Konstriktionen stattgefunden haben. (DE GROUCHY et al., 1973)
Die stark fluoreszierenden Zentromerregionen der Chromosomen 3 und 4 bei einigen Individuen ließen sich demnach durch die Fusion zweier akrozentrischer Chromosomen mit stark fluoreszierendem Abschnitt erklären. Bei der Untersuchung von balancierten Translokationen vom Robertson - Typ bei akrozentrischen Chromosomen konnte die Entstehung monozentrischer und dizentrischer Chromosomen mit fluoreszierender Zentromerregion beobachtet werden. (NIEBUHR, 1972)
Trotz der zahlreichen Hinweise auf Möglichkeiten für die Entstehung der polymorphen Variationen sind die genauen Ursachen noch weitgehend ungeklärt. Eine Zunahme stark fluoreszierender oder schwach fluoreszierender Chromosomenabschnitte kann, muß jedoch nicht mit einem veränderten Chromatingehalt des gesamten Genoms verbunden sein.

5.4. Anwendung des Polymorphismus

Die polymorphen Merkmale der Chromosomen, die in dieser Untersuchung beschrieben wurden, markieren die Chromosomen eines Individuums in typischer Weise. Die Markierungen treten nicht spontan auf, sondern werden vererbt. So lassen sich bestimmte Chromosomen in ihrem Erbgang verfolgen. Daraus ergibt sich, daß die typischen individuellen Merkmale zur Klärung genetischer Verhältnisse herangezogen werden können.
Mit Hilfe des Polymorphismus des Chromosoms 21 war es möglich, die Vermutung zu bestätigen, daß das überzählige Chromosom bei der Trisomie 21 (DOWN - Syndrom, Mongoloismus) vorwiegend von der Mutter vererbt wird. (SCHNEDL, 1974)
SCHNEDL hat in einer Arbeit auf die Bedeutung des Polymorphismus für den Vaterschaftsnachweis hingewiesen. Die Untersuchung des polymorphen Fluoreszenzmusters bietet sich vor allem in den Fällen an, in denen aus serologischen Eigenschaften allein kein Ausschluß zu erzielen ist. Die Ausschlußwahrscheinlichkeit aus dem stark fluoreszierenden Fleck des Chromosoms Nr. 3 allein beträgt 18,7 %. Aus allen stark fluoreszierenden Variationen zusammen ergibt sich eine Ausschlußwahrscheinlichkeit von 7o %, ohne Berücksichtigung der schwach fluoreszierenden Variationen. Durch die Kombination von C - und Q - Banden - Technik, die am gleichen Präparat nacheinander durchgeführt werden können, lassen sich Variationen an mindestens 1o von den 23 Chromosomenpaaren des Menschen erfassen. (SCHNEDL, 1974)

Durch die Präparation der Chromosomen aus Amnionepithelzellen ist auch eine pränatale Bestimmung des kindlichen Variationsmusters möglich. (JONASSON et al., 1972)
Nach Bestimmung des mütterlichen Fluoreszenzmusters läßt sich nachweisen, daß fetales Gewebe angezüchtet wurde.
Auf die Bedeutung des Polymorphismus der stark fluoreszierenden Abschnitte für die vergleichende Zytogenetik wurde schon in den vorhergehenden Abschnitten hingewiesen.
Die Erwartungen, aus der Verteilung der polymorphen Abschnitte

nähere Aufschlüsse über die Lokalisation bestimmter Gene in bestimmten Abschnitten der Chromosomen zu erhalten, (FRIED, 1971) haben sich bisher nicht erfüllt, da es sich bei den polymorphen Abschnitten offensichtlich um genetisch inaktives Chromosomenmaterial handelt, und den Variationen der Chromosomen keine phänotypischen Variationen zugeordnet werden können.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde das Fluoreszenzverhalten der Chromosomen 28 phänotypisch unauffälliger Individuen von 5 Familien. Die Präparationen wurden mit Quinacrinfarbstoffen angefärbt und fluoreszenzmikroskopisch ausgewertet.

Die Chromosomen 3 und 4 zeigen bei einigen Individuen einen stark fluoreszierenden Fleck. An den akrozentrischen Chromosomen der D- und G - Gruppe sind Variationen stark fluoreszierender und schwach fluoreszierender Chromosomenabschnitte zu beobachten.

Das Chromatin der polymorphen Chromosomenabschnitte ist vermutlich genetisch inaktiv und muß dem konstitutiven Heterochromatin zugeordnet werden.

Die genauen Ursachen für das Auftreten der polymorphen Variationen sind, trotz einzelner Hinweise auf verschiedene Möglichkeiten, weitgehend ungeklärt.
Die Variationen treten nicht spontan auf, sondern werden nach den mendelschen Regeln vererbt. Sie markieren die Chromosomen eines Individuums in charakteristischer Weise und können zur Klärung genetischer Verhältnisse herangezogen werden.

Literaturverzeichnis

Abuelo, J. G., Moore, P. E.:
The human chromosome. Electron microscopie observations on chromatin fiber organization.
J Cell Biol, 41, 73 (1969)

Alfi, O. S., Donnell, G. N., Derencsenyi, A.:
Quinacrine Fluoromicroscopy in the Indentification of Human Mitotic Chromosomes.
Pediatrics, 48, 423 - 425 (1971)

Angerer, L. M., Moudrianakis, E. N.:
Interaction of ethidium bromide with whole and selectively deproteinized deoxynucleoproteins from calf thymus.
J mol Biol, 63, 5o5 - 521 (1972)

Arakaki, D. T., Sparkes, R. S.:
Microtechnique for culturing leucocytes from whole blood.
Cytogenetics, 2, 57 (1963)

Arrighi, F. E., Hsu, T. C.:
Localization of Heterochromatin in Human Chromosomes.
Cytogenetics, 1o, 81 - 86 (1971)

Arrighi, F. E., Saunders, G. F., Hsu, T. C., Saunders, P. P.:
Distribution of Repetitious DNA in Human Chromosomes.
Experientia, 27, 964 - 966 (1971)

Aula, P., Saksela, E.:
Comparison of Areas of Quinacrine Mustard Fluorescence ans Modified Giemsa Staining in Human Metaphase Chromosomes.
Exp Cell Res, 71, 161 - 167 (1972)

Bridges, C. B.:
Non - disjunction as proof of the chromosome theory of hereditas.
Genetics, 1, 1o7 (1916)

Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Lindsten, J., Hulten,M.:
Fluorescent Staining of Heteropycnotic Chromosome Regions in Human Interphase Nuclei.
Exp Cell Res, 61, 472 - 474 (197o a)

Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C., Modest, E. J.:
Identification of Human Chromosomes by DNA - Binding Fluorescent Agents.
Chromosoma (Berl.), 3o, 215 - 227 (197o b)

Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C.:
Analysis of Human Metaphase Chromosome Set by Aid of DNA - Binding Fluorescent Agents.
Exp Cell Res, 62, 49o - 492 (197o c)

Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C.:
Quinacrine Mustard - Fluorescence of Human Chromosomes 4, 5 and X.
Esp Cell Res, 61, 474 - 475 (197o d)

Caspersson, T., Lindsten, J., Zech, L.:
Identification of the abnormal B Group Chromosome in the "cri du chat" Sysdrome by QM Fluorescence.
Exp Cell Res, 61, 475 - 476 (197o e)

Caspersson, T., Lomakka, G., Zech, L.:
The 24 Fluorescence Patterns of the Human Metaphase Chromosomes - Distinguishing Characters and Variability.
Hereditas (Lund), 67, 89 - 1o2 (1971)

Chaudhuri, J. P., Vogel, W., Voiculescu, I., Wolf, U.:
A Simplified Method of Demonstrating Giemsa - Band Patterns in Human Chromosomes.
Humangenetik, 14, 83 - 84 (1971)

Comings, D. E.:
The structure and function of chromatin.
In: Advances in human genetics.
New York - London: Plenum Press 1972

Comings, D. E.:
Model for Evolutionary Origin of Chromosome Bands.
Nature New Biol, 244, 576 - 577 (1973)

Comings, D. E., Avelino, E., Okada, T. A., Wyandt, H. E.:
The Mechanism of C - and G - Banding of Chromosomes.
Exp Cell Res, 77, 469 - 493 (1973)

Corneo, G., Ginelli, El, Polli, E.:
Repeated Sequences in Human DNA.
J Mol Biol, 48, 319 (197o)

Craig-Holmes, A. P., Shaw, M.:
Polymorphism of Human Constitutive Heterochromatin.
Science, 174, 7o2 - 7o4 (1971)

Craig-Holmes, A. P., Moore, F. B., Shaw, M.:
Polymorphism of Human C - Band Heterochromatin.
I. Frequency of Variants.
Amer J Hum Genet, 25, 181 - 192 (1973)

Evans, H. J., Buckton, K. E., Sumner, A. T.:
Catological Mapping of Human Chromosomes: Results Obtained with Quinacrine Fluorescence and the Acetic-Saline - Tiemsa Technique.
Chromosoma (Berl.), 35, 31o - 325 (1971)

Fried, K.:
Clinical Applications of Polymorphism in Chromosome Fluorescence.
Clinical Genetics, 2, 12o - 122 (1971)

Ganner, E., Evans, H. J.:
The Relationship between Patterns of DNA Replication and of Quinacrin Fluorescence in the Human Chromosome Complement.
Chromosoma (Berl.), 35, 326 - 341 (1971)

Gigliani, F., de Capoa, A., Rocchi, A.:
A Marker Chromosome Number 14 with Double Satellite Observed in Two Generations: An Unbalanced Chromosome Constitution Associated with Normal Phetotype.
Humangenetik, 15, 191 - 195 (1972)

Golomb, H. M., Bahr, G. F.:
Analysis of Human Chromosomal Variants by Quantitative Electron Microscopy I. Group D Chromosome with Giant Satellites.
Genetics, 69, 123 - 128 (1971)

de Grouchy, J., Turleau, C., Roubin, M., Colin, F. C.:
Chromosomal Evulution of Man and the Primates (Pan troglotydes, Gorilla gorilla, Pongo pygmaeus).
In: Chromosome Identification - technique and applications in biology and medicine.
Nobel Symposium 23, New York - London (1973)

Hamerton, J. L.:
Chromosome Band Nomenclature - The Paris Conference 1971.
In: Chromosome identification - technique and applications in biology and medicine.
Nobel Symposium 23, New York - London (1973)

Harbers, E., Sandritter, W.:
Aufbau und Funktion des Chromatins.
Klin Wochenschr, 51, 631 - 643 (1973)

Heitz, E.:
Die somatische Heteropyknose bei Drosophila Melanogaster und ihre genetische Bedeutung.
Z Zellfor, 2o, 237 (1933)

Heitz, E.:
Über - und ß - Heterochromatin sowie Konstanz und Bau der Chromosomen bei Drosophila Melanogaster.
Biol Zentral Leipzig, 54, 588 (1934)

Jonasson, J., Lindsten, J., Lundborg, R., Kissmeyer-Nielsen, F., Lamm. L. U., Petersen, G. B., Therkelsen, A. J.:
HL-A antigens and heteromorphic characters of chromosomes in prenatal paternity investigation.
Nature (Lond.), 236, 312 - 313 (1972)

Jones, K. W., Corneo, G.:
Location of satellite and homogeneous DNA sequences on human chromosomes.
Nature New Biol., 233, 268 - 271 (1971)

Kornberg, R. D.:
Chromatin Structure: A Repeating Unit of Histones and DNA.
Science, 184, 868 - 871 (1974)

Kornberg, R. D., Thomas, J. O.:
Chromatin Structure: Oligomers of the Histones.
Science, 184, 865 - 868 (1974)

Lima-de-Faria, A.:
Differential uptake of triated thymidine into hetero- and euchromatin in Melanopas and Secak.
J Biophys Biochem Cytol 6, 457 (1959)

Lomholt, B., Mohr, J.:
Human Karyotyping by Heat - Giemsa Staining and Comparison with Fluorescence Technique.
Nature New Biol., 234, 108 - 110 (1971)

Lubs, H. A., Ruddle, F. H.:
Chromosome Polymorphism in American Negro and White Population.
Nature (Lond.), 233, 134 - 136 (1971)

Mendelsohn, M. L., Mayall, B. H., Bongart, E., Moore II, D. H., Perry, B. H.:
DNA Content and DNA - Bades Centromeric Index of the 24 Human Chromosomes.
Science, 179, 1126 - 1129 (1973)

Miller, O. J., Schreck, R. R., Beiser, S. M., Erlanger, B. F.:
Immunfluorescent Studies of Chromosome Banding with Anti-nucleoside Antibodies.
In: Chromosome identification - technique and applications in biology and medicine.
Nobel Symposium 23, New York - London (1973)

Modest, E. J.:
Fluorescent Banding Agents.
In: Chromosome identification - technique and applications in biology and medicine.
Nobel Symposium 23, New York - London (1973)

Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Battips, D. M., Hungerford, D. A.:
Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood.
Exp Cell Res, 2o, 613 (196o)

Muller, H. J., Painter, T. S.:
The differentiation of the sex chromosomes of Drosophila into Genetically active and inert regions.
Zeit. f. Abst. u. Vererbungsl. 62, 316 (1932)

Nagl, W.:
Role of Heterochromatin in the Control of Cell cycle Duration.
Nature (Lond.), 249, 53 - 54 (1974)

Niebuhr, E.:
Dicentric and Monocentric Robertsonian Translocations in Man.
Humangenetik, 16, 217 - 226 (1972)

Pardue, M. L., Gall, J. G.:
Chromosomal Localization of Mouse Satellite DNA.
Science, 163, 1356 - 1358 (1970)

Pawlowitzki, I. H.:
The Correspondence between Quinacrin Banding Patterns and Sites of Secondary Constrictions in Human Chromosomes.
Humangenetik, 15, 236 - 241 (1972)

Pearson, P.:
The Uniqueness of the Human Karyotype.
In: Chromosome identification - technique an applications in biology and medicine.
Nobel Symposium 23, New York - London (1973)

Rocchi, A., de Capoa, A., Gigliani, F.:
Double Satellites: Autoradiographic Study of a Chromosomal Marker Observed in Two Generations.
Humangenetik, 14, 6 - 12 (1971)

Rosenkranz, W., Holzer, S., Scholz, H.:
Familiäres Vorkommen von Doppelsatelliten an Chromosomen der Gruppe D
Deutsche Med Wschr, 13, 554 (1971)

Saunders, G. F., Hsu, T. C., Getz, M. J. Simes, E. L., Arrighi, F. E.:
Locations of a Human Satellite DNA in Human Chromosomes.
Nature New Biol, 69, 244 - 246 (1972)

Schmid, W.:
Genetisch inaktive Chromosomenabschnitte.
Fortschr Med, 88, 529 - 53o (197o)

Schnedl, W.:
Unterschiedliche Fluoreszenz der beiden homologen Chromosomen Nr. 3 beim Menschen.
Humangenetik, 12, 59 - 63 (1971 a)

Schnedl, W.:
Fluoreszenzuntersuchungen über die Längenvariabilität des Y - Chromosoms beim Menschen.
Humangenetik, 12, 188 - 194 (1971 b)

Schnedl, W.:
Banding Patterns of Human Chromosomes.
Nature New Biol, 233, 93 - 94 (1971 c)

Schnedl, W.:
Analysis of the Human Karyotype Using a Reassociation Technique.
Chromosoma (Berl.) 34, 448 - 454 (1971 d)

Schnedl, W.:
Der Polymorphismus des menschlichen Chromosomensatzes - eine Möglichkeit für den Vaterschaftsnachweis.
Z Rechtsmed, 74, 17 - 23 (1974)

Schwinger, E., Pera, F.:
On the Splitting of the Y Fluorescent Body in Man.
Humangenetik, 14, 1o7 - 111 (1971)

Schwinger, E., Weizel, H.:
Pränatale Geschlechtsdiagnostik an Amnionephithelzellen mittels Fluoreszenzmikroskopie.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde, 1, 2o - 24 (1972)

Schwinger, E., Sperling, H., Schwieder, R.:
Strongly Fluorescent Chromosome Bands in Metaphase and Interphase.
Humangenetik, 22, 127 - 132 (1973)

Selander, R. K., de la Chapelle, A.:
The Fluorescence of Quinacrin Mustard with Nucleic Acids.
Nature New Biol, 245, 24o - 243 (1973)

Sinha, A. K., Bejar, R. L.:
Long Y - Chromosome Associated with Enlarged Satellites on a D - Chromosome.
Southern Med J, 61, 5 - 9 (1968)

Sperling, K., Wiesner, R.:
A Rapid Banding Technique for Routine Use in Human and Comparative Cytogenetics.
Humangenetik, 15, 349 - 353 (1972)

Sumner, A. T., Evans, H. J., Buckland, R. A.:
New Technique for Distinguishing between Human Chromosomes.
Nature New Biol, 232, 31 - 32 (1971)

Weisblum, B., de Haseth, P. L.:
Quinacrine, A Chromosome Stain Specific for Deoxyadenolate - Deosythymidylate - Rich Regions in DNA.
Proc Nat Acad Sci US, 69, 629 - 632 (1972)

Yunis, J. J., Roldan, L., Yasmineh, W. G., Lee, J. C.:
Staining of repetitive DNA sequences in metaphase chromosomes.
Nature New Biol, 231, 532 (1971)

Zech, L.:

Fluorescence Banding Techniques.
In: Chromosome identification - technique and applications in biology and medicine.
Nobel Symposium 23, New York - London (1973)

L E B E N S L A U F

Am 15. Dezember 1942 wurde ich als zweiter Sohn der Eheleute Wilhelm und Anna Schwieder in Gelsenkirchen geboren.
Nach Besuch der Volksschule und des Albert - Schweitzer - Gymnasiums in Marl/Westf. erhielt ich am 21. Februar 1964 das Zeugnis der Reife.
Von 1964 bis 1965 leistete ich meinen Wehrdienst bei der Bundeswehr ab.
Im Oktober 1965 schrieb ich mich an der philologischen Fakultät der Ruhr - Universität Bochum ein. Zum Sommersemester wechselte ich an die Universität Bonn über und begann dort im Wintersemester 1968/69 mit dem Studium der Medizin.
Im Oktober 1969 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab, im März 1971 die ärztliche Vorprüfung.

Im Juli 1974 bestand ich die ärztliche Prüfung mit der Gesamtnote "gut".

Von November 1974 bis Juni 1975 arbeitete ich als Medizinalassistent in der inneren Abteilung des St. Elisabeth-Stiftes in Gelsenkirchen, seit Juli 1975 in der chirurgischen Abteilung.

Herrn Priv. Doz. Dr. E. Schwinger
möchte ich an dieser Stelle meinen
herzlichen Dank für die Überlassung
des Themas sowie seine überaus
freundliche Unterstützung und Beratung
bei dessen Bearbeitung aussprechen.

Den Assistentinnen Frau Haase und
Frau Bücking danke ich herzlich für
ihre Hilfe und technische Beratung
bei der Anfertigung der Präparate
und Photographien.